

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,

et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



## MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du **diplôme** de **MASTER**

En science biologique

**Spécialité** : Biochimie

Par : **MEDELCI DJEZZAR Ibrahim**

**Sujet**

---

# Étude *in silico* des interactions moléculaires enzyme-inhibiteur : cas de la lipase pancréatique humaine

---

Examiné le --/07/2021.

### Membres du Jury :

Examineur 1	Pr. Sari Lamia	Professeur	UABT
Examineur 2	Dr. Cherrak Sabri Ahmed	Maître de conférences A	UABT
Encadrante	Dr. Benmansour Meriem	Maître de conférences B	UABT

Année universitaire : 2020/2021

## ***Remerciements***

Mes remerciements s'adressent à mon encadrante  
Mme BENMANSOUR Meriem, Maître de conférences B au département de  
Biologie, Faculté des SNV-STU, Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen,  
pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, ses orientations, sa  
disponibilité, son aide et sa solidarité.

Je tiens à remercier également  
Mme SARI Lamia, Professeur au département de Biologie,  
Faculté des SNV-STU, Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen,  
pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury d'examen de mémoire.

J'exprime mes sincères gratitudes  
à Mr. CHERRAK Sabri Ahmed Maître de conférences B au département de  
Biologie, Faculté des SNV-STU, Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen,  
pour son aide et ses précieux conseils dans la partie *in silico* et pour l'honneur  
d'avoir accepté d'être examinateur de ce mémoire.

Un merci spécial à mon ami Zakaria BENS AHLI pour ses relectures, ses  
corrections et son attention bienveillante dans ce travail.

## Résumé

Les lipases ou triacylglycérol acyl-hydrolases (EC 3.1.1.3) sont des  $\alpha/\beta$ -hydrolases d'esters du glycérol, qui jouent un rôle clé dans le métabolisme des lipides. Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'inhibition de la lipase pancréatique humaine qui hydrolyse les lipides alimentaires dans le système digestif, en transformant le triacylglycérol présents dans les huiles ingérées en monoglycérides et en acides gras libres. Cette inhibition réduit la digestion et l'absorption des lipides ainsi que l'accumulation des tissus adipeux, cela permet de contrôler et de traité l'obésité.

La présente étude a pour objectif d'étudier *in silico* les interactions moléculaire de dix potentiels inhibiteurs d'origine naturelle avec la lipase pancréatique humaine. Pour cela, trois principaux logiciels ont été utilisés ; AutoDock Vina pour effectuer le docking moléculaire, Discovery Studio Visualizer pour visualiser les interactions moléculaires, et SwissADME pour prédire la biodisponibilité par voie orale des composés testés.

L'analyse de nos résultats a montré que parmi les dix inhibiteurs testés, seulement l'alisol B et l'alisol C, dérivés de la plante *Alisma orientale*, sont prédit comme de bon inhibiteurs de la lipase pancréatique humaine en raison de l'absence des effets indésirable probable.

**Mots clés : Lipase pancréatique humaine, inhibiteurs, docking moléculaire**

## **Abstract**

Lipases or triacylglycerol acyl hydrolases (EC 3.1.1.3) are  $\alpha/\beta$ -glycerol ester hydrolases, which play a key role in lipid metabolism. In this study, we focused on the inhibition of human pancreatic lipase, which hydrolyses dietary lipids in the digestive system, converting triacylglycerol present in ingested oils into monoglycerides and free fatty acids. This inhibition reduces lipid digestion and absorption as well as the accumulation of adipose tissue, thereby controlling and treating obesity.

The current *in silico* study aims to investigate the molecular interactions of ten potential naturally occurring inhibitors with the human pancreatic lipase. For this purpose, three main software packages are used, AutoDock Vina to perform the molecular docking, Discovery Studio Visualizer to visualise the molecular interactions, SwissADME to predict the oral bioavailability of the tested compounds.

The analysis of our results showed that among the ten inhibitors tested; only alisol B and alisol C derived from the plant *Alisma orientale* predicted to be good inhibitors due to the absence of probable adverse effects.

**Key Words: Human pancreatic lipase, inhibitors, molecular docking**

## ملخص

الليباز أو ثلاثي الجلسرين أسيل هيدرولاز (EC 3.1.1.3) هي عبارة عن  $\beta/\alpha$  هيدرولاز، والتي تلعب دورا رئيسيا في التمثيل الغذائي للدهون. في هذه الدراسة، ركزنا على تثبيط ليباز البنكرياس البشري، الذي يحلل الدهون الغذائية في الجهاز الهضمي، ويحول ثلاثي الجلسرين الموجود في الزيوت المبتلعة إلى أحادي الجليسيريد وأحماض دهنية حرة. يقلل هذا التثبيط من هضم الدهون وامتصاصها وكذلك من تراكم الأنسجة الدهنية، وبالتالي التحكم في السمنة وعلاجها.

الهدف من هذه الدراسة هو التحقيق في التفاعلات الجزيئية لعشرة مثبطات طبيعية محتملة مع ليباز البنكرياس البشري. لهذا

الغرض، تم استخدام ثلاثة برامج رئيسية، AutoDock Vina لأداء الالتحام الجزيئي، Discovery Studio

Visualizer لرؤية التفاعلات الجزيئية، SwissADME للتنبؤ بالتوافر الحيوي عن طريق الفم للمثبطات التي تم اختبارها.

أظهرت تحاليل نتائجنا أنه من بين العشرة المثبطات التي تم اختبارها، فقط alisol B و C alisol المسخرج من النبتة

*Alisma Orientale* متوقع أن تكون مثبطات جيدة بسبب غياب الآثار جانبية محتملة.

الكلمات المفتاحية: ليباز البنكرياس البشري، مثبطات، الالتحام الجزيئي.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : L'action des lipases sur les liaisons ester carboxyliques des TAG.....	6
<b>Figure 2</b> : Structure tridimensionnelle de la LPH en complexe avec la colipase.....	7
<b>Figure 3</b> : Représentation de la structure secondaire du repliement $\alpha/\beta$ des lipases.....	8
<b>Figure 4</b> : Triade catalytique du site actif de la LPH.....	9
<b>Figure 5</b> : Conformation fermée et ouverte de la lipase pancréatique.....	10
<b>Figure 6</b> : Mécanisme catalytique de l'hydrolyse d'une liaison ester.....	11
<b>Figure 7</b> : Réactions d'hydrolyse et d'estérification catalysées par les lipases.....	12
<b>Figure 8</b> : Réactions de transestérification catalysées par les lipases.....	13
<b>Figure 9</b> : Voies métaboliques des lipides dans le corps humain.....	16
<b>Figure 10</b> : Logiciels de docking les plus mentionnés.....	24
<b>Figure 11</b> : Processus du docking moléculaire avec AutoDock Vina.....	27
<b>Figure 12</b> : Interface d'AutoDockTools.....	28
<b>Figure 13</b> : Interface de logiciel de visualisation PyMOL.....	28
<b>Figure 14</b> : Interface de logiciel DSV.....	29
<b>Figure 15</b> : Résultats d'une prédiction faite par swissADME.....	29
<b>Figure 16</b> : Interface de la base de données PDB.....	30
<b>Figure 17</b> : Interface de la base de données PubChem.....	30
<b>Figure 18</b> : Les 4 différents sites de liaison des inhibiteurs étudiés.....	37
<b>Figure 19</b> : Interactions de 11-déoxyalisol B avec la LPH.....	38
<b>Figure 20</b> : Interactions d'orientin avec la LPH.....	38
<b>Figure 21</b> : Interactions d'alisol B avec la LPH.....	39
<b>Figure 22</b> : Interactions d'EGCG avec la LPH.....	39
<b>Figure 23</b> : Interactions de 16-oxoalisol A avec la LPH.....	40
<b>Figure 24</b> : Interactions de l'alisol B 23-acétate avec la LPH.....	40
<b>Figure 25</b> : Interactions d'alisol A avec la LPH.....	41
<b>Figure 26</b> : Interactions de l'isoorientin avec la LPH.....	41
<b>Figure 27</b> : Interactions de l'isovitexin avec la LPH.....	42
<b>Figure 28</b> : Radar de biodisponibilité de l'orientin, l'isoorientin et l'isovitexin.....	43
<b>Figure 29</b> : Radar de biodisponibilité de l'EGCG.....	43
<b>Figure 30</b> : Radar de biodisponibilité d'alisol B 23-acétate.....	44
<b>Figure 31</b> : Radar de biodisponibilité de 11-déoxyalisol B.....	44
<b>Figure 32</b> : Radar de biodisponibilité de l'alisol A, le 16-oxoalisol A, l'alisol B et l'alisol C45	

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Représentation des structures 3D des inhibiteurs étudiés dans ce travail .....	31
<b>Tableau 2</b> : Résultats de docking moléculaire.....	36

## Liste des abréviations

<b>ADME</b>	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
<b>ADT</b>	AutoDockTools
<b>CPU</b>	Central Processing Unit.
<b>DAG</b>	Diacylglycérol.
<b>DSV</b>	Discovery Studio Visualizer
<b>EGCG</b>	Epigallocatechin gallate.
<b>FDA</b>	Food and Drugs Administration.
<b>FS</b>	Fonction de score.
<b>GPU</b>	Graphics Processing Unit.
<b>LP</b>	Lipase pancréatique.
<b>LPH</b>	Lipase Pancréatique Humaine.
<b>MAG</b>	Monoacylglycérol.
<b>MAGL</b>	Monoacylglycérol lipases.
<b>MTC</b>	Médecine Traditionnelle Chinoise.
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology Information.
<b>PDB</b>	Protein Data Bank.
<b>PM</b>	Poids moléculaire
<b>RAM</b>	Random Access Memory.
<b>TAG</b>	Triacylglycérol.
<b>THL</b>	Tétrahydrolipstatine.

## Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>PARTIE I : Étude bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>CHAPITRE I : Les lipases</b> .....	<b>5</b>
1. Généralités.....	6
2. Structure .....	7
3. Mécanisme d'action des lipases .....	10
4. Réactions catalysées par les lipases .....	11
4.1. L'hydrolyse.....	11
4.2. Les réactions de synthèse.....	12
5. Propriétés de sélectivité des lipases .....	13
5.1. La typosélectivité.....	13
5.2. La régiosélectivité.....	14
5.2.1. Lipases 1,3-spécifiques.....	14
5.2.2. Lipases spécifiques des acides gras .....	14
5.2.3. Lipases non spécifiques .....	14
5.3. L'énantiosélectivité .....	15
6. Origine des lipases .....	15
7. La lipase et l'obésité.....	15
7.1. Mécanismes métaboliques des inhibiteurs de la lipase pancréatique .....	16
7.2. Effet d'un inhibiteur de lipase sur le métabolisme lipidique de l'obésité <i>in vivo</i> ...	16
8. Inhibiteurs de la lipase.....	17
8.1. Epigallocatechin gallate (EGCG) .....	17
8.2. Inhibiteurs de lipase d' <i>Alisma orientale</i> .....	18
8.3. L'orientin, l'isorientin et l'isovitexin.....	18
<b>CHAPITRE II : Docking moléculaire</b> .....	<b>19</b>
1. Principe théorique .....	20
2. Algorithmes de docking moléculaire .....	20

2.1. Docking à corps rigide .....	20
2.2. Docking à corps flexible .....	21
3. Fonction de Score.....	22
3.1. Les fonctions de score basées sur le champ de force.....	22
3.2. Fonction de score basées sur la connaissance “ <i>Knowledge-based</i> ” .....	22
3.3. Fonction de score empirique.....	23
4. Précision du docking .....	23
5. Logiciels de docking moléculaire .....	24
<b>PARTIE II : Partie expérimentale.....</b>	<b>25</b>
<b>CHAPITRE III : Matériel et méthodes.....</b>	<b>26</b>
1. Matériel .....	27
1.1. PC.....	27
1.2. Logiciels.....	27
1.3. Banques de données.....	30
2. Méthodes .....	31
2.1. Préparation de la protéine .....	31
2.2. Préparation des inhibiteurs.....	31
2.3. Docking moléculaire.....	33
<b>CHAPITRE IV : Résultats et discussion.....</b>	<b>35</b>
1. Résultats de docking moléculaire.....	36
2. Les interactions moléculaires .....	37
3. Propriétés pharmacologiques .....	42
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>46</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>48</b>

# **INTRODUCTION**

## **INTRODUCTION**

L'obésité est un facteur de risque courant pour les maladies métaboliques telles que le diabète de type 2, l'hyperlipidémie et l'hypertension, qui peuvent mener à des maladies athérosclérotiques comme les maladies coronariennes et les accidents vasculaires cérébraux. L'organisation mondiale de la santé reconnaît l'obésité comme l'un des dix principaux problèmes de santé publique à l'échelle mondiale (Després & Lemineux, 2006).

De nombreuses sociétés pharmaceutiques ont mené des recherches sur les médicaments anti-obésité tel que les coupe-faim visant à réduire le poids corporel. Cependant, avec les médicaments à action centrale, l'effet pharmacologique de la diminution de la prise alimentaire est souvent associé à des effets secondaires sur le système nerveux central. Dernièrement, plusieurs travaux portant sur les inhibiteurs de la lipase pancréatique humaine comme cible thérapeutique contre l'obésité, ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur efficacité thérapeutique à moindre risque toxique. En effet, ces enzymes jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des lipides en catalysant la décomposition hydrolytique des triacylglycérols (TAG). (Hu et al., 2021; Yamada, Kato, Ogino, Ashina, & Kato, 2008).

Parmi les composés inhibiteurs de la lipase pancréatique humaine, les molécules naturelles dérivées de plantes médicinales traditionnelles telle que l'epigallocatechin gallate (EGCG) du thé vert *Camellia sinensis*, présentent une opportunité pour le développement de nouvelles substances thérapeutiques pour lutter contre l'obésité. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes intéressés à dix composés d'origine naturels, extraits à partir de 3 plantes différentes, dont l'effet inhibiteur contre la lipase pancréatique humaine (LPH) a été prouvé *in vitro* (Bose et al., 2008; Grove, Sae-tan, kennett, & Lambert, 2012; Sergent, Vanderstraeten, Winand, Beguin, & Schneider, 2012).

Actuellement, la recherche en biologie ne peut se passer d'outils informatiques pour expliquer et déterminer le mode d'interaction du complexe enzyme-inhibiteur. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'amarrage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "docking"). Ce dernier permet de prédire *in silico* la structure intermoléculaire formée dans un complexe protéine-ligand ou protéine-protéine, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre les deux molécules (Sethi, Joshi, Sasikala & Alvala, 2020).

## **INTRODUCTION**

C'est la raison pour laquelle, nous nous sommes intéressés à l'application de docking moléculaire pour la prédiction des modes d'interactions possibles entre la LPH et dix inhibiteurs naturels en utilisant l'AutoDock Vina (Trott & Olson, 2010).

A cet effet, le présent mémoire commence par une introduction générale qui présente la problématique du thème, suivie de deux parties :

La première partie est une étude bibliographique subdivisée en deux chapitres. Le premier chapitre comporte une recherche bibliographique sur les lipases et plus particulièrement la lipase pancréatique humaine, sa structure, son mécanisme catalytique et son inhibition. Le deuxième chapitre porte sur les principes de docking moléculaire.

La deuxième partie est une partie expérimentale également subdivisée en deux chapitres. Le premier consiste à décrire le matériel et les techniques utilisés pour mener notre étude. Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, ce travail s'achève par une conclusion générale.

# **PARTIE I**

## **Étude bibliographique**

# **CHAPITRE I**

## Les lipases

1. Généralités

Les lipases ou triacylglycérol acyl-hydrolases (EC 3.1.1.3) sont des  $\alpha/\beta$ -hydrolases d'esters du glycérol qui font partie de la sous-classe des hydrolases spécifiques des esters carboxyliques (EC 3.1.1), donc des enzymes capable d'hydrolyser spécifiquement les liaisons ester carboxyliques des TAG, qui lient les acides gras au squelette carboné glycérol (figure 1). Ces enzymes, présentes dans des tissus animaux, végétaux ainsi que chez de nombreux microorganismes, jouent un rôle clé dans le métabolisme des lipides. *In vivo*, les lipases catalysent, en milieu aqueux la décomposition par hydrolyse des triglycérides en diacylglycérol (DAG) ou monoacylglycérol (MAG), acides gras et glycérol (Ghanem & Schurig, 2001; Klibanov, 2001; Taipa, Aires-Barros, & Cabral, 1992).

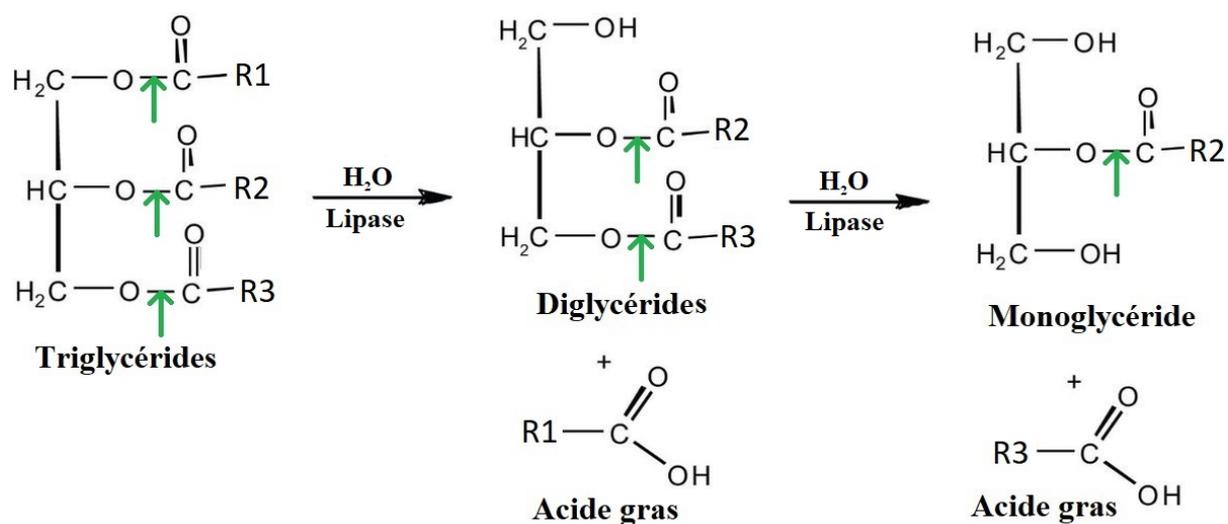


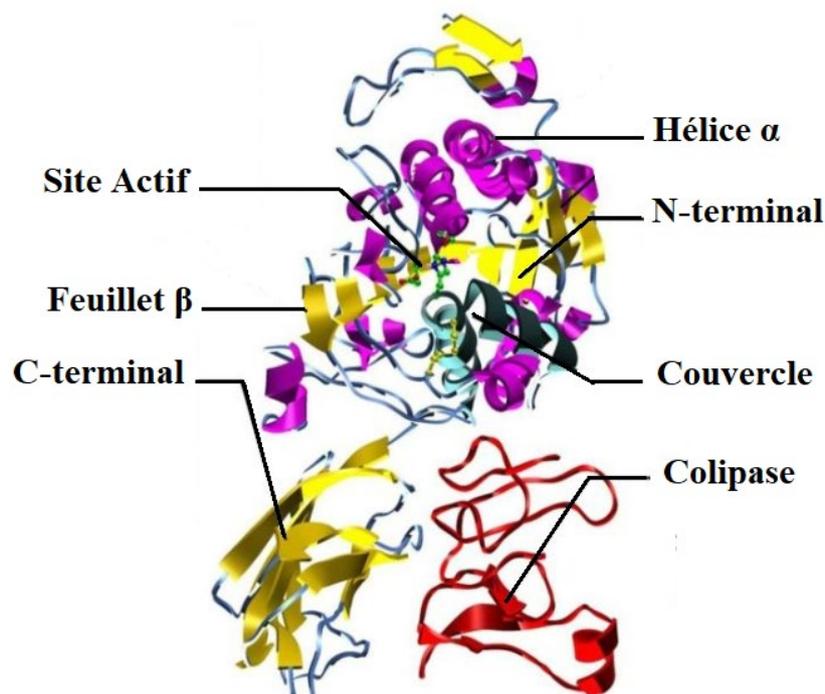
Figure 1 : L'action des lipases sur les liaisons ester carboxyliques des TAG.

(Les liaisons esters carboxyliques représentées par les flèches vertes, sont les liaisons hydrolysées par l'action des lipases. R1, R2 et R3 représentent les chaînes d'acides gras).

Comme la plupart des biocatalyseurs, les lipases présentent généralement une forte chimio-, régio- et énantiosélectivité, et sont utilisées dans de nombreux domaines tels que l'industrie alimentaire, laitière, détergente, pharmaceutique, agrochimique et oléochimique. Mais leur principal avantage est qu'elles ne nécessitent pas de cofacteur, contrairement à de nombreux biocatalyseurs (Alloue, et al., 2008; Dumitriu, Secundo, Patarin, & Fechete, 2003; Gupta, Gupta, & Rathi, 2004; Patil, Chopda, & Mahajan, 2011; Reetz, 2002).

## 2. Structure

Les premières structures cristallographiques publiées sont celles de la lipase du champignon filamentueux *Rhizomucor miehei* et de la lipase pancréatique humaine (LPH) (figure 2). Depuis, plus de 60 structures tridimensionnelles ont été fournies sur NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Bien que les séquences peptidiques présentent peu de similitude, ce qui est dû principalement à l'hétérogénéité de leur origine, les lipases ont la même structure tridimensionnelle dans son ensemble (Brady *et al.*, 1990; Fickers, Destain, & Thonart, 2008; Winkler, D'Arcy, & Hunziker, 1990).



**Figure 2** : Structure tridimensionnelle de la lipase pancréatique humaine en complexe avec la colipase (Mukherjee, 2014).

La structure primaire de la LPH a été établie par analyse de clones d'ADNc isolés à partir d'une bibliothèque d'ADNc du pancréas humain. La séquence de nucléotides présente un cadre de lecture ouvert de 1395 nucléotides, codant pour une protéine de 465 acides aminés. L'extrémité N-terminale de la protéine mature, déterminée par l'analyse de la séquence d'acides aminés, est précédée d'un peptide signal hydrophobe de 16 acides aminés pour donner une protéine mature de 449 acides aminés (Winkler, D'Arcy & Hunziker, 1990).

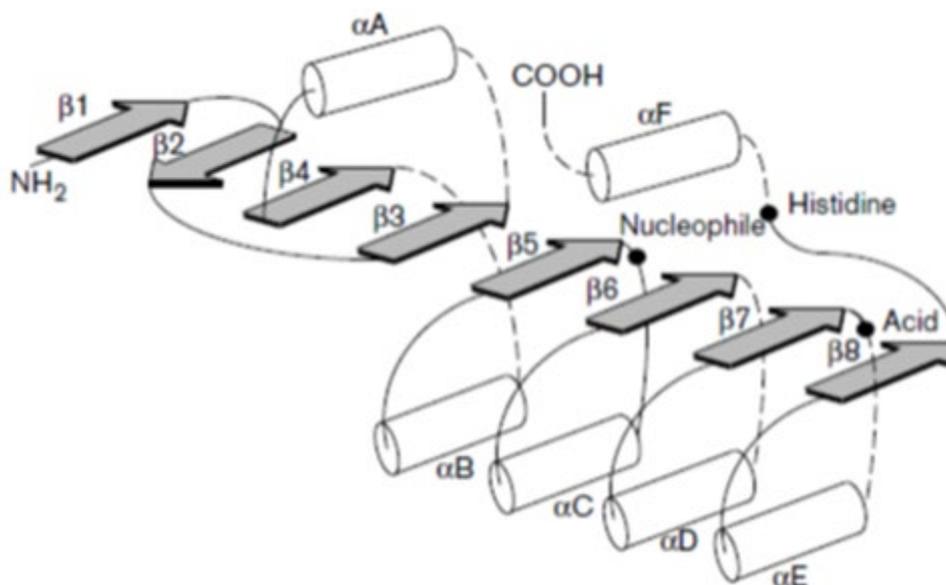
Le polypeptide est divisé en deux unités de repliements. Un grand domaine N-terminal comprenant les résidus 1-335 qui est typique d'une structure  $\alpha/\beta$  dominée par un feuillet B central parallèle, et le domaine C-terminal qui est du type  $\beta$ -sandwich, formé de deux couches

de feuillet  $\beta$ , et qui interagit avec un cofacteur protéique de 10 kDa, la colipase (figure 2) (Winkler, D'Arcy, & Hunziker, 1990).

L'étude structurale cristallographique des lipases, par diffraction aux rayons X, révèle trois caractéristiques principales :

➤ Un repliement  $\alpha/\beta$  :

La structure de base commune de toutes les lipases connues est le repliement  $\alpha/\beta$ , formé d'un feuillet  $\beta$  à huit brins essentiellement parallèle (seul le deuxième brin  $\beta$  est antiparallèle), connectés aux six hélices  $\alpha$  par un coude nucléophile (figure 3). Cinq des six connexions croisées entre les brins parallèles sont du type commun droitier  $\beta/\alpha/\beta$ . La dernière est du type très rare gaucher, longue de près de 100 résidus et contient trois segments hélicoïdaux  $\alpha$  et trois ponts disulfures (figure 3). Le repliement  $\alpha/\beta$  est la caractéristique la plus importante et la plus conservée des  $\alpha/\beta$  hydrolases (Winkler, D'Arcy, & Hunziker, 1990; Nardini & Dijkstra, 1999).



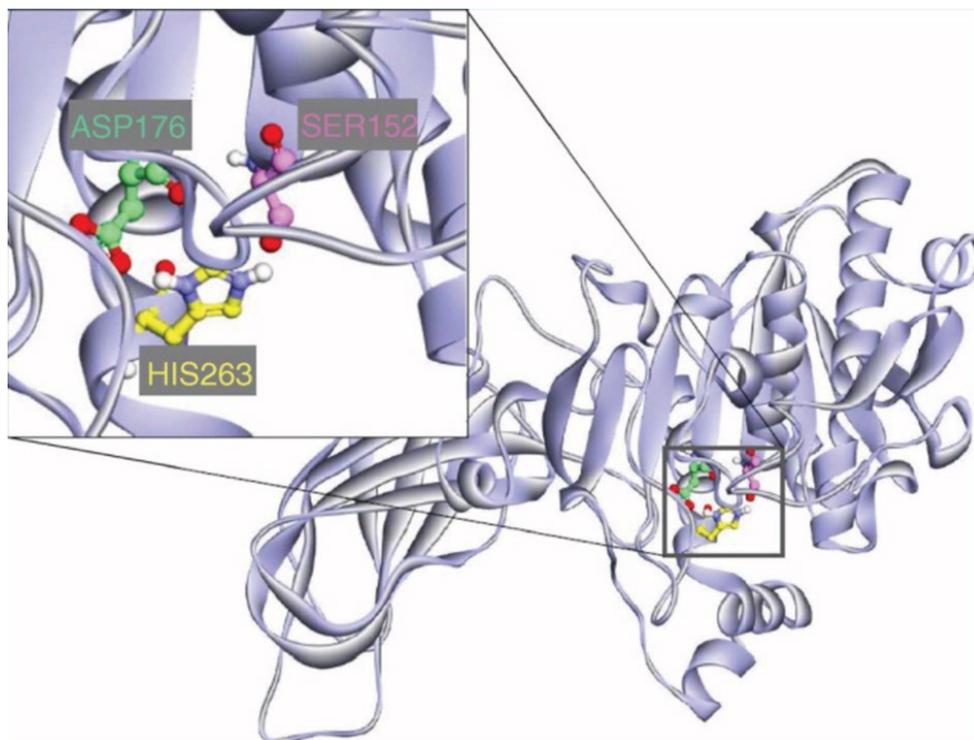
**Figure 3** : Représentation de la structure secondaire du repliement  $\alpha/\beta$  des lipases (Nardini & Dijkstra, 1999).

➤ Une triade catalytique :

Le site catalytique des lipases est essentiellement constitué de trois acides aminés (triade catalytique) : Sérine, Histidine, Acide Aspartique (ou Acide Glutamique) (figure 4). La sérine catalytique est généralement incluse dans le pentapeptide GX SXG. Au niveau de la structure secondaire des lipases, la sérine catalytique est toujours située dans un coude nucléophile situé à l'extrémité C-terminale du cinquième brin  $\beta$  et suivie immédiatement d'une hélice  $\alpha$  (Figure 3). L'histidine de la triade catalytique est située à l'extrémité C-terminale du dernier brin du feuillet constituant le repliement  $\alpha/\beta$ , tandis que l'acide carboxylique (Asp ou Glu) est

généralement situé à l'extrémité du septième brin (Fickers, Destain, & Thonart, 2008; Pleiss, Fischer, Peiker, Thiele, & Schmid, 2000)

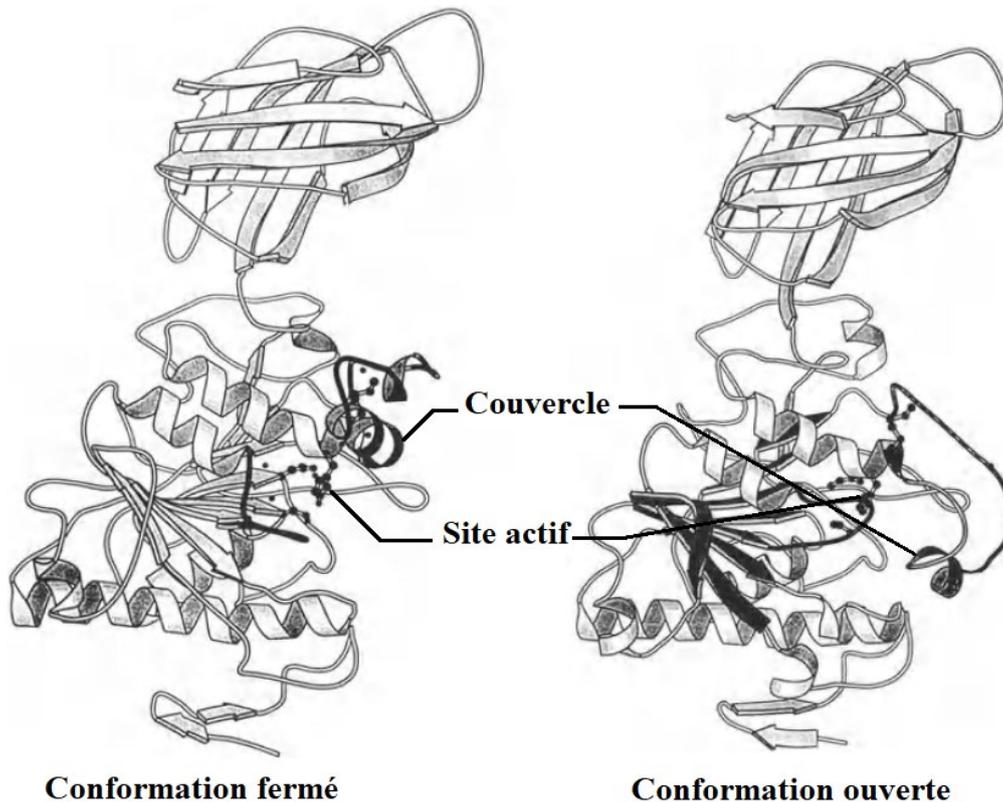
Le site catalytique est constitué également d'un trou de l'oxyanion, celui-ci est un intermédiaire tétraédrique composé de quelques résidus impliqués dans la stabilisation au cours de la catalyse (Pleiss, Fischer, Peiker, Thiele, & Schmid, 2000).



**Figure 4** : Triade catalytique du site actif de la LPH (Almasri, 2020).

➤ Un couvercle amphiphile :

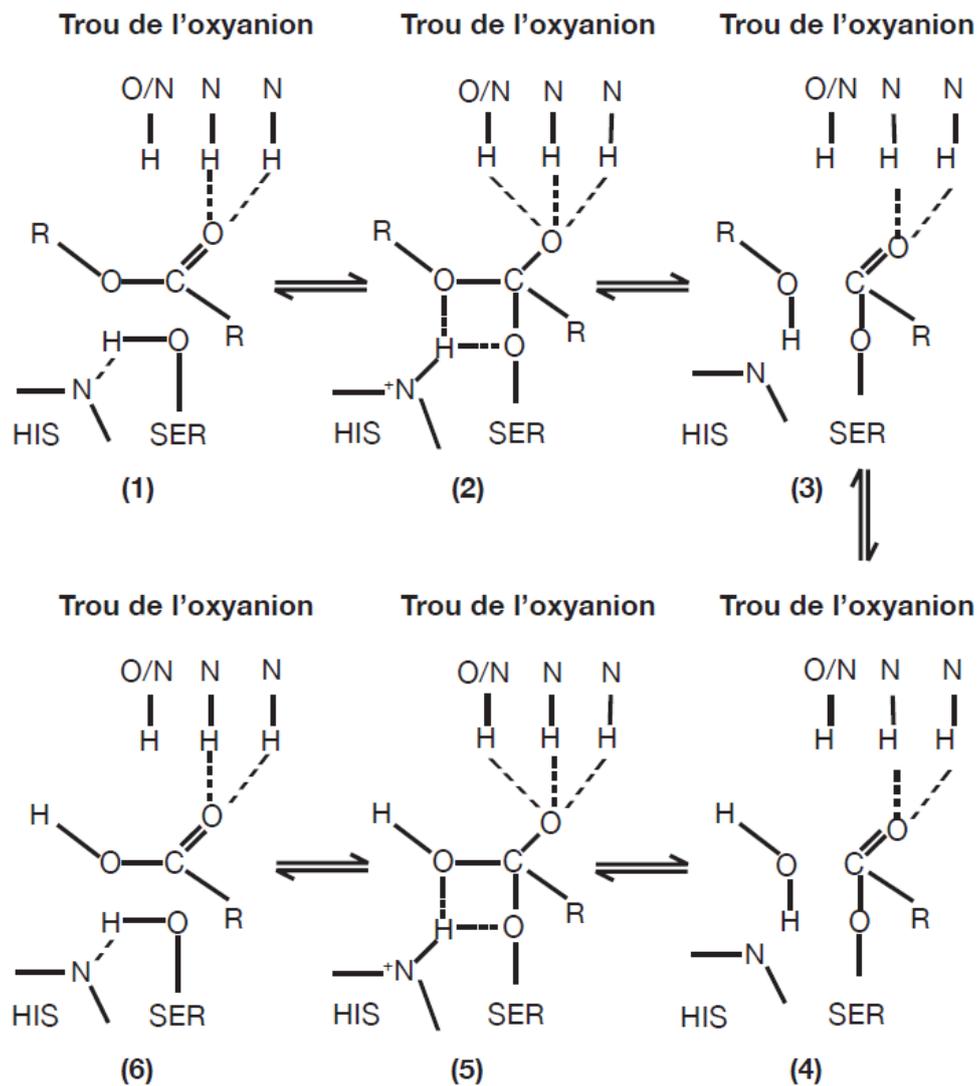
Les lipases présentent un sous-domaine mobile appelé couvercle, qui contrôle l'accès des molécules de substrat au centre catalytique, formé par une ou deux  $\alpha$ -hélices de 23 acides aminés liées au squelette de l'enzyme par une structure flexible. Les structures cristallographiques ont montré que ce domaine est capable d'adopter deux conformations distinctes : conformation fermée et conformation ouverte (figure 5). Dans l'état fermé, le site actif n'est pas accessible au solvant et la surface de l'enzyme est principalement hydrophile (le côté hydrophobe du couvercle est orienté vers la partie intérieure du site actif), ce qui rend la lipase inactive. En revanche, dès que l'enzyme se trouve à l'interface lipide/eau, le couvercle s'ouvre, révélant une large surface hydrophobe ce qui rend le site actif accessible au solvant et au substrat, (Anobom et *al.*, 2014; Bansode & Rathod, 2017; Bordes et *al.*, 2010; Brady et *al.*, 1990; Derewenda, Derewenda & Dodson, 1992; Renaldi et *al.*, 2010).



**Figure 5 :** Conformation fermée et ouverte de la lipase pancréatique (Verger, Ferrato, Aoubala, De Caro, & Ivanova , 1994).

### 3. Mécanisme d'action des lipases

Le groupe hydroxyle de la sérine attaque le carbone de la fonction carboxyle du substrat pour former le premier intermédiaire tétraédrique. Les liaisons hydrogène entre l'oxyanion (oxygène chargé négativement) de l'intermédiaire tétraédrique et les groupes N-H du peptide stabilisent sa charge et forment le trou de l'oxyanion. Ce trou stabilise la structure tétraédrique, abaissant l'énergie d'activation de la réaction. Lorsque l'enzyme est acylé, la liaison carboxylate est rompue et l'alcool (correspondant au glycérol, DAG ou MAG) est libéré. Cette deuxième liaison ester carboxylique est ensuite attaquée par une molécule d'eau, ce qui entraîne la formation d'un deuxième intermédiaire tétraédrique. Sa dissociation libérera des acides gras hydrolysés et l'enzyme restaure sa capacité d'hydrolyse (figure 6) (Beer, Wohlfahrt, McCarthy, Schomburg, & Schmid, 1996; Jaeger, Dijkstra, & & Reetz, 1999).



**Figure 6** : Mécanisme catalytique de l'hydrolyse d'une liaison ester (Beer, Wohlfahrt, McCarthy, Schomburg, & Schmid, 1996).

#### 4. Réactions catalysées par les lipases

##### 4.1. L'hydrolyse

Les lipases catalysent naturellement l'hydrolyse de la liaison ester des tri-, di- et monoglycérides en acides gras et en glycérol. Néanmoins, comme le montrent les figures 7 et 8, elles sont également actives sur une large gamme de substrats. Dans tous les cas, la réaction s'effectue à l'interface d'une réaction en système biphasique. Ce dernier résulte de la présence d'une phase organique non miscible, contenant le substrat hydrophobe, dans l'eau. (Casas-Godoy *et al.*, 2018).

#### 4.2. Les réactions de synthèse

Dans des conditions thermodynamiques favorables, les lipases catalysent également une grande variété de réactions de synthèse qui peuvent être classées en deux grands types de réactions, à savoir l'estérification et la transestérification. L'estérification est la réaction où un acide gras est lié, par l'action de l'enzyme, à un alcool par une liaison covalente, produisant un ester et libérant une molécule d'eau. La thioestérification et l'amidation sont des réactions similaires mais avec un thiol ou une amine comme substrats. La transestérification regroupe l'alcoolyse, l'acidolyse, l'aminolyse et l'interestérification (figures 7 et 8) (Casas-Godoy *et al.*, 2018; Kapoor & Gupta, 2012).

Les lipases sont également capables d'exprimer d'autres activités connexes telles que des activités phospholipase, lysophospholipase, cholestérol estérase, cutinase ou amidase (Bora, Gohain, & Das, 2013).

#### Hydrolyse



#### Synthèse

##### Estérification

##### Estérification



##### Thioestérification



##### Amidation



**Figure 7** : Réactions d'hydrolyse et d'estérification catalysées par les lipases (Casas-Godoy *et al.*, 2018).

**Transestérification**

## Acidolyse



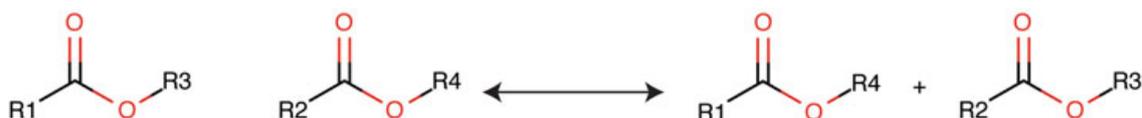
## Aminolyse



## Alcoololyse



## Interestérification

**Figure 8** : Réactions de transestérification catalysées par les lipases(Casas-Godoy *et al.*, 2018).**5. Propriétés de sélectivité des lipases**

Les lipases possèdent souvent différents types de sélectivité envers ces substrats. C'est la raison principale de leur utilisation en synthèse organique. On peut distinguer trois types de sélectivité : la typosélectivité, la régiosélectivité et l'énantiosélectivité.

**5.1. La typosélectivité**

La typosélectivité est associée à la préférence pour un substrat donné, par exemple, les tri-, di- ou monoglycérides. *Arabidopsis thaliana* possède des monoacylglycérols lipases (MAGL), similaires à une MAGL humaine, qui hydrolysent la dernière étape de la dégradation des lipides. Les monoacylglycérol lipases ont également été trouvées dans les bactéries, car les monoglycérides sont hautement toxiques pour elles. Une autre lipase avec une sélectivité inhabituelle est la Lip1 de *Malassezia globosa* qui est strictement sélective pour les mono et diglycérides et inactive sur les triacylglycérol (Kim, Kim, Shim, & Suh, 2016; Rengachari *et al.*, 2013; Xu, Lan, Yang, & Wang, 2015).

Cette sélectivité fait également référence à la préférence des lipases pour les acides gras à courte, moyenne ou longue chaîne et au degré d'insaturation et aux substitutions potentielles du substrat. La préférence d'une lipase pour des groupes acyles de taille différente est

directement influencée par la forme de son site de liaison et la nature des acides aminés composant ce dernier. En effet, les isoformes homologues de la lipase de *Candida rugosa* diffèrent dans leur spécificité de longueur de chaîne en raison de légères modifications des acides aminés dans leur site de liaison en forme de tunnel. En outre, les lipases peuvent présenter une chimiosélectivité, c'est-à-dire la spécificité des lipases envers un groupe chimique spécifique (Barriuso, Vaquero, Prieto, & Martinez, 2016).

## 5.2. La régiosélectivité

La régiosélectivité est définie comme l'attaque préférentielle des lipases envers une liaison ester donnée dans le squelette glycérol des triglycérides, c'est-à-dire une liaison ester primaire ou secondaire. En fonction de leur indice de spécificité positionnelle (PSI), les lipases peuvent être divisé en trois grands groupes : lipases 1,3-spécifiques, lipases spécifiques des acides gras et lipases non spécifiques (Casas-Godoy et al., 2018; Matori, Asahara, & Ota, 1991; Ranganathan, Narasimhan, & Muthukumar, 2008).

### 5.2.1. Lipases 1,3-spécifiques

Ce sont ceux qui ne peuvent catalyser des réactions que sur les groupes hydroxyle primaires du triglycéride. Ainsi, elles libèrent préférentiellement les acides gras de la position 1 et 3 pour donner des acides gras libres et des DAG et/ou MAG. Les lipases 1,3-spécifiques comprennent celles produites par *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Yarrowia lipolytica*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor endophyticus*, *Rhizopus delemar*, *Thermomyces lanuginosus*, et la lipase B de *Candida antarctica* (Bueso, Moreno, Cedeño, & K, 2015; Ghattas, Abidi, Galai, Marzouki, & Salah, 2014; Kapoor & Gupta, 2012; Soumanou, Pérignon, & Villeneuve, 2013; Watanabe et al., 2014).

### 5.2.2. Lipases spécifiques des acides gras

Certaines lipases préfèrent hydrolyser les esters qui sont formés à partir d'acides gras à longue chaîne avec des doubles liaisons entre C-9 et C-10. Par exemple les lipases de *Geotrichum candidum* et de graines d'avoine non germées (Kapoor & Gupta, 2012).

### 5.2.3. Lipases non spécifiques

Les lipases non spécifiques catalysent les réactions sur tous les groupes hydroxyles du triglycéride et peuvent donc éliminer les acides gras de n'importe quelle position du triglycéride. Elles catalysent la décomposition complète du triglycéride en glycérol et en acides gras libres, Les diglycérides et les monoglycérides sont formés comme intermédiaires dans le mélange réactionnel. Ces intermédiaires sont hydrolysés plus rapidement que le triglycéride et ne s'accumulent donc pas dans la réaction. Des exemples de lipases non régiospécifiques sont

celles de *Staphylococcus aureus*, *Candida rugosa*, *Candida viscosum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia glumae* et *Burkholderia cepacia*. (Barriuso, Vaquero, Prieto, & Martinez, 2016; Gupta, Gupta, & Rathi, 2004; Kapoor & Gupta, 2012; Ribeiro, De Castro, Coelho, & Freire, 2011; Sarkar, Yamasaki, Basak, Bera, & Bag, 2012).

### **5.3. L'énantiosélectivité**

L'énantiosélectivité désigne la préférence des lipases envers un énantiomère particulier d'une molécule chirale, dans une réaction chimique impliquant un mélange racémique (mélange des deux énantiomères). L'énantiosélectivité présente donc un grand intérêt pour l'industrie pharmaceutique (Casas-Godoy et al., 2018).

## **6. Origine des lipases**

Les lipases sont largement disponibles et sont ubiquitaires dans les tissus animaux et végétaux ainsi que dans une variété de micro-organismes. La plupart des lipases utilisées dans la recherche sont dérivées de microorganismes vu que les lipases des animaux sont utilisées plus pour le diagnostic clinique que pour la production commerciale en raison de facteurs de complication tels que la manipulation des cultures et la séparation des produits. Aussi, il existe une plus grande variété de lipases microbiennes que les lipases végétales et animales en termes de pH fonctionnel, de température et de spécificité du substrat, ce qui est pratique pour la production industrielle et la génération d'enzymes de grande pureté (Patil, Chopda, & Mahajan, 2011; Sarmah et al., 2018; Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020).

Ces facteurs ont favorisé la recherche d'applications fondamentales et pratiques des lipases dans divers domaines. Il existe de nombreux types de micro-organismes qui produisent des lipases, et 65 genres ont été signalés jusqu'à présent, dont 28 genres de bactéries, 10 genres de levures, 4 genres d'actinomycètes et 23 genres d'autres champignons (Kang et al., 2006; Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020).

## **7. La lipase et l'obésité**

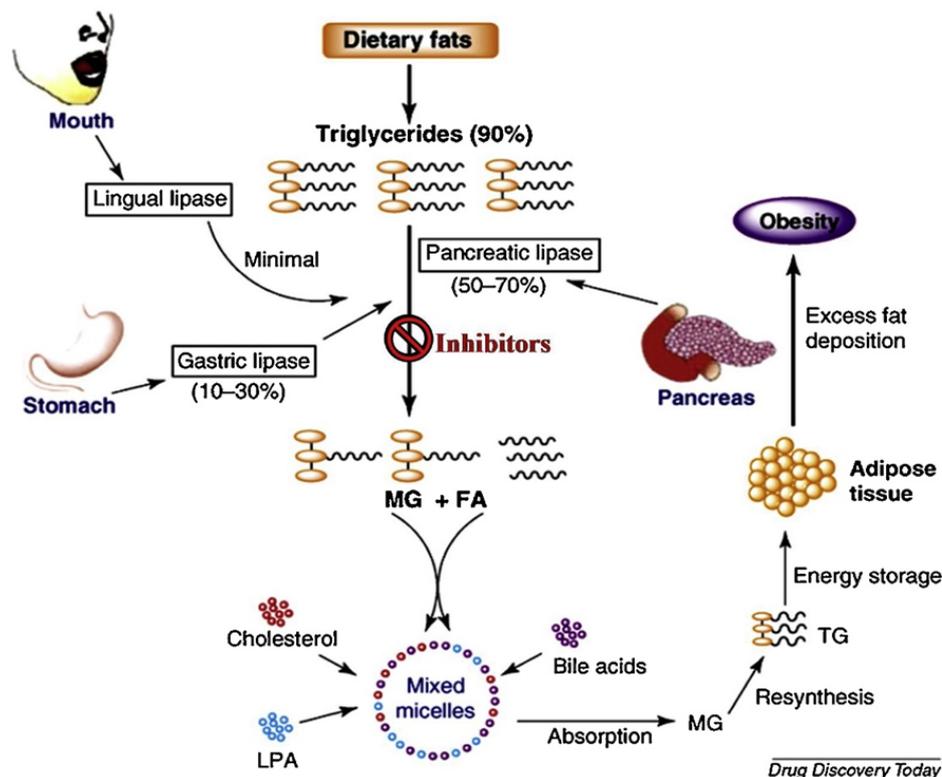
Le développement de l'obésité est étroitement lié au métabolisme des graisses corporelles. L'alimentation principale (90 %) est composée de triglycérides mixtes, mais, les graisses exogènes ne peuvent pas être utilisées directement par le corps humain et pour être absorbées ils doivent être hydrolysés par les lipases présentes dans le système digestif qui sont les lipases de la langue, les lipases gastriques et les lipases pancréatique (Aloulou & Carrière, 2008; Basque & Ménard, 2000; Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020).

Les lipases gastriques sont souvent considérées comme un facteur important qui régule la sécrétion des lipases pancréatiques et jouent un rôle auxiliaire dans la lipolyse. La plus

importante d'entre elles est la lipase pancréatique (LP), qui affecte directement l'absorption des acides gras dans l'intestin. La LP hydrolyse les lipides alimentaires dans le système digestif, en transformant le triacylglycérol présents dans les huiles ingérées en monoglycérides et en acides gras libres. Dans l'intestin, les monoglycérides et les acides gras libres sont ensuite déplacés vers les entérocytes (cellules tapissant les intestins), où ils sont absorbés (Lowe, 1997; Lowe, 2002; Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020).

### 7.1. Mécanismes métaboliques des inhibiteurs de la lipase pancréatique

La figure 9 montre la voie métabolique des lipides dans le corps humain. Les inhibiteurs de lipase, en se combinant avec la partie active de la lipase de l'estomac et de l'intestin grêle, inhibent l'activité catalytique de cet enzyme, cela résulte une réduction de la digestion et l'absorption des lipides présents dans les aliments ainsi que l'accumulation des tissus adipeux. Ce procédé permet de contrôler et de traiter l'obésité. Après avoir agité, l'inhibiteur de la lipase est généralement excrété en même temps que la lipase à laquelle il est lié. Par conséquent, il ne provoque pas d'effets à long terme dans le corps humain (Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020; Sánchez et al., 2008).



**Figure 9** : Voies métaboliques des lipides dans le corps humain (Birari & Bhutani, 2007).

### 7.2. Effet d'un inhibiteur de lipase sur le métabolisme lipidique de l'obésité *in vivo*

De nombreux essais cliniques et sur des animaux ont montré que les inhibiteurs de lipase améliorent le métabolisme des lipides chez les personnes obèses. En inhibant l'absorption des

acides gras et en réduisant ainsi l'accumulation d'acides gras dans l'organisme, ils réduisent le taux de LDL dans le sérum et augmentent le taux de HDL (Liu, Liu, Chen, & Shi, 2020).

Dans l'étude de Kang et *al.*, (2012), les inhibiteurs de lipase nommés protamine et chitooligosaccharide ont réduit les niveaux de triglycérides, la teneur en LDL et augmenté la teneur en HDL dans le foie et le sérum.

Une étude ultérieure de Chen et *al.*, (2020) a montré que les fibres alimentaires solubles (SDF provenant de poudres micronisées de nœuds de racine de lotus) réduisent de manière significative l'activité de la lipase pancréatique et la teneur en LDL, améliorent la teneur en HDL, empêchent la croissance des adipocytes et régulent le métabolisme des lipides.

Une autre étude récente de Liu et *al.*, (2020), a constaté que la théophylline extraite du thé *Fu Brick* en tant qu'inhibiteur de lipase peut améliorer l'environnement de transport des lipides dans le corps. Par exemple, les phosphatidylcholines et les phosphatidyls éthanolamines sont augmentés dans le foie, et l'accumulation de DAG, d'acide gras et d'acide gras acétylé est réduite, ceci est dû à la réduction de l'hydrolyse des TAG dans l'intestin en raison de l'activité de l'inhibiteur de la LP dans le tractus intestinal. Selon les recherches de Meng et *al.*, (2011), la théophylline extraite du café a un effet sur la réduction des taux de LDL dans le sérum et sur l'augmentation des taux de HDL. Les conséquences biochimiques de l'intervention pharmacologique de l'orlistat comprennent des réductions significatives des concentrations sériques de cholestérol total et de cholestérol LDL chez les patients traités par l'orlistat.

## **8. Inhibiteurs de la lipase**

La lipase pancréatique, enzyme cruciale responsable de l'hydrolyse des lipides alimentaires, a été validée comme une cible thérapeutique pour prévenir et traiter les troubles métaboliques associés à l'obésité. Les inhibiteurs de lipase constituent une classe intéressante de composés hypolipémiants, qui inhibent l'activité de la lipase pancréatique humaine. De nombreux chercheurs ont étudié ces inhibiteurs et ont fourni des informations sur leurs modes d'action. Par ailleurs, l'utilisation d'inhibiteurs de lipase gastro-intestinale pour lutter contre l'obésité a également généré de nombreuses données importantes (Huo et *al.*, 2021; Kumar & Chauhan, 2021; Yang, Gu, Han, & Wang, 2021).

### **8.1. Epigallocatechin gallate (EGCG)**

Parmi les composés naturels inhibiteurs de la LP, les polyphénols du thé vert *Camellia sinensis* sont de plus en plus pris en considération en raison de leurs propriétés anti-obésité, anticancéreuse, anti-inflammatoire et antivirale (Chen, Ye, Zhang, Yao, & Chen, 2014; Grove, Sae-tan, Kennett, & Lambert, 2012; Tang, Fu, Shankar, & Srivastava, 2012; Zhou et *al.*, 2014).

Bose et *al.*, (2008) ont découvert que l'EGCG, principal composant actif des polyphénols du thé vert, pouvait inhiber l'obésité, le syndrome métabolique et la stéatose hépatique chez des souris nourries avec des aliments ayant des taux de graisses élevées.

De plus, Sergent et *al.*, (2012) ont rapporté que l'EGCG inhibait l'activité PL avec une valeur IC<sub>50</sub> de 0,8 mmol/L.

Par ailleurs, Grove et *al.*, (2012) ont découvert que l'EGCG inhibait l'activité de la LP avec une valeur IC<sub>50</sub> de 7,5 mmol/L de façon non compétitive et réduisait le poids corporel de souris obèses.

Cependant, les mécanismes d'interaction entre les groupements hydroxyle de l'EGCG et de la LP ne sont toujours pas clairs (Wang S. , Sun, Dong, Liu, & Liu, 2014).

### **8.2. Inhibiteurs de lipase d'*Alisma orientale***

La médecine traditionnelle chinoise (MTC) a suscité une attention croissante dans la découverte et l'identification rapides d'inhibiteurs d'enzymes d'origine naturelle. Une étude avait pour but de découvrir des inhibiteurs de lipase inconnus d'*Alisma orientale* par une méthode d'analyse orientée vers l'activité. Onze inhibiteurs de lipase naturels provenant d'extraits d'*Alisma orientale* ont été identifiés, et sont assignés comme triterpénoïdes : alisol B, alisol B 23-acétate, 11-déoxy-alisol B, 11-déoxy-alisol B 23-acétate, alisol A/épialisol A, 16-oxo-11-déoxyalisol A, 16-oxoalisol A, alisol C ; alisol C 23-acétate, alisol M 23-acétate, alismanol Q/néoalisol (Yang, Gu , han, & Wang, 2021).

### **8.3. L'orientin, l'isorientin et l'isovitexin**

La feuille de bambou est connue comme un thé diététique pour la prévention de l'obésité en Chine. Pour cribler rapidement les inhibiteurs de lipase à partir de l'extrait de feuille de bambou, une pêche aux ligands magnétiques fonctionnalisés par la lipase combinée à la HPLC/MS a été établie. Tout d'abord, la lipase a été immobilisée sur des nanoparticules magnétiques par l'amidon dialdéhyde pour obtenir des nanoparticules magnétiques fonctionnalisées par la lipase, puis elles ont été incubées avec de l'extrait de feuille de bambou pour repêcher les ligands. Trois inhibiteurs d'enzyme ont été obtenus et identifiés comme orientin, isorientin et isovitexin par HPLC/MS. Les résultats ont fourni une preuve puissante pour expliquer les effets hypolipémiants de l'extrait de feuilles de bambou, et cette méthode de pêche aux ligands est réalisable pour cribler les inhibiteurs d'enzymes à partir de mélanges complexes (Guo et *al.*, 2019)

# **CHAPITRE II**

## **Docking moléculaire**

## **1. Principe théorique**

Le docking moléculaire est un outil qui permet de prédire *in silico* la structure intermoléculaire formée dans un complexe protéine-ligand ou protéine-protéine, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre les deux molécules. Donc les logiciels de Docking sont des outils extrêmement pratiques dans le domaine de la biologie, de la pharmacologie et de la médecine, du fait que la majorité des principes actifs sont de petites molécules (ligands), qui interagissent avec des cibles biologiques ayant un intérêt sur le plan thérapeutique (Sethi, Joshi, Sasikala & Alvala, 2020).

Pour mener à bien des études de docking, il faut disposer d'une structure à haute résolution, modélisée par rayons X, par RMN ou par homologie, avec un site de liaison connu ou prédit dans la biomolécule (Grid Box). Les méthodes de docking permettent d'adapter un ligand à un site de liaison des protéines cibles ce qui nous permet de caractériser le comportement des ligands dans ce site ainsi que de comprendre les processus biochimiques fondamentaux (Meng, Zhang, Mezei, & Cui, 2011; Sethi, Joshi, Sasikala, & Alvala, 2020).

Deux facteurs fondamentaux permettent de distinguer les différents logiciels de docking disponibles : l'algorithme de docking moléculaire et la fonction de score.

## **2. Algorithmes de docking moléculaire**

Les algorithmes de docking peuvent être classés en deux grandes catégories : ceux qui ne considèrent pas la flexibilité de la protéine, en la traitant comme un corps rigide, et ceux qui sont capables de considérer, partiellement, la flexibilité du récepteur.

### **2.1. Docking à corps rigide**

La méthode de Docking à corps rigide ne tient pas compte de la flexibilité ni du ligand ni du récepteur, ce qui limite la spécificité et la précision des résultats, en considérant essentiellement les complémentarités géométriques entre deux molécules. Mais, même sans tenir compte de la flexibilité, la simulation de docking à corps rigide est capable d'identifier des sites de liaison de ligands pour plusieurs protéines différentes (Dias & Filgueira De Azevedo Jr, 2008).

La simulation de docking à corps rigide a été employée pour des initiatives de screening virtuel. Cette méthode a été utilisée comme le moyen le plus rapide pour effectuer un screening initial d'une base de données de petites molécules. Elle présente une précision relativement élevée, lorsqu'on la compare aux structures cristallographiques. Cette précision est encore plus élevée si l'on introduit une analyse des meilleurs résultats à l'aide d'une fonction de scoring

empirique à l'aide de simulations de docking à corps rigide. Habituellement, des fonctions flexibles de docking ou/et de scoring sont utilisées pour appliquer un raffinement plus spécifique et une optimisation des pistes après la procédure initiale de docking à corps rigide, étant donné que ces méthodes exigent une puissance de calcul et un temps de processeurs CPU élevés (Dias & Filgueira De Azevedo Jr, 2008).

## 2.2. Docking à corps flexible

Les méthodes de docking flexibles peuvent prendre en compte plusieurs conformations possibles du ligand ou du récepteur, ainsi que pour les deux molécules en même temps, à un coût en temps de calcul plus élevé. Les applications de docking utilisent généralement une ou plusieurs des méthodes suivantes :

- **Fast shape matching (SM)** : Les algorithmes de correspondance de forme sont des approches qui prennent en compte le chevauchement géométrique entre deux molécules, les logiciels de docking à corps rigide tels que ZDOCK adoptent généralement le concept de base de SM comme recours principal (Kuntz, Blaney, Oatley, Langridge, & E, 1982).
- **Incremental construction (IC)** : Cet algorithme divise le ligand en fragments qui sont dockés séparément dans le site actif de la protéine. Une fois que les fragments sont dockés, ils seront fusionnés ensemble. L'algorithme IC est utilisé dans plusieurs programmes de docking tels que DOCK, FLEXX, FLOG et Surfex (Jain, 2007; Kramer, Rarey, & Lengauer, 1999).
- **Monte Carlo simulations (MC)** : Cet algorithme est utilisé pour déplacer de façon aléatoire le ligand à l'intérieur d'un site de liaison du récepteur. Après chaque mouvement aléatoire, une minimisation de l'énergie basée sur le champ de force est appliquée. Cette procédure permet de créer des complexes binaires plus fiables. Les logiciels ICM et MCDOCK utilisent MC comme algorithme de base (Liu & Wang, 1999).
- **Distance geometry (DG)** : Cette méthode de recherche utilise des informations qui peuvent être exprimées par des distances intra- et intermoléculaires. Ces distances peuvent être assemblées, ce qui permet de calculer des structures ou des conformations (Moré & Wu, 1999).
- **Evolutionary programming (EP)** : Les algorithmes EP utilisent des modèles computationnels de processus naturels évolutifs comme outil de résolution de problèmes (Eiben & Smith, 2003).

- **Genetic algorithms (GA)** : Les GA appartiennent à la classe des algorithmes EP dont le but est de trouver ou d'approcher des solutions pour des problèmes de recherche et, dans le cas du docking moléculaire, le but est d'essayer de trouver la conformation exacte ou la plus proche de l'énergie globale minimum. L'un des logiciels de docking moléculaire les plus connus qui utilisent le GA est AUTODOCK (Morris et al., 1998).
- **Tabu search (TS)** : L'algorithme de docking TS a montré une grande précision, étant capable d'empêcher la simulation d'être piégée dans des minima locaux et en évitant de visiter des conformations à énergie minimale déjà connues. Et, il a été démontré qu'il était capable de prédire les conformations d'un ensemble de test de 50 complexes binaires, présentant une RMSD inférieure à 1,5 Å (Baxter, Murray, Clark, Westhead, & Eldridge, 1998).

### 3. Fonction de Score

La fonction de score (FS) consiste à estimer la force avec laquelle la pose dockée d'un tel ligand se lie à la cible (une telle force est quantifiée par des mesures d'affinité ou d'énergie libre de la liaison). Alors que de nombreux algorithmes relativement robustes et précis de génération de pose sont disponibles, les imprécisions dans la prédiction de l'affinité de liaison par SF restent le principal facteur limitant la fiabilité du docking. En effet, malgré des recherches intensives depuis plus de deux décennies, la prédiction précise des affinités de liaison pour de grands ensembles de complexes protéine-ligand est toujours l'un des problèmes ouverts les plus importants en chimie computationnelle (Ain, Aleksandrova, Roessler, & Ballester, 2015).

Les FS classiques sont classées en trois classes : Les fonctions de score basées sur le champ de force, fonction de score « *Knowledge-based* », et empirique (Liu et al., 2015).

#### 3.1. Les fonctions de score basées sur le champ de force

Les fonctions basées sur le champ de force consistent en une somme de termes d'énergie provenant d'un champ de force classique, prenant généralement en compte les énergies d'interaction du complexe protéine-ligand et l'énergie interne du ligand, tandis que l'énergie de solvation peut être calculée par des modèles de solvation continus tels que le modèle de Poisson-Boltzmann ou le modèle de Born généralisé correspondant. DOCK et DockThor sont des exemples de fonctions de scoring basées sur les champs de force (De Magalhães, Almeida, Barbosa, & Dardenne, 2014).

#### 3.2. Fonction de score basées sur la connaissance «*Knowledge-based*»

Les fonctions de score « *Knowledge-based* » sont réalisées à partir de l'analyse statistique des paires d'atomes en interaction provenant de complexes protéine-ligand avec des

structures tridimensionnelles disponibles. Ces données sur les paires d'atomes sont converties en un pseudopotentiel, également connu sous le nom de potentiel de force moyen, qui décrit les géométries préférées des paires d'atomes protéine-ligand (Guedes, Pereira, & Dardenne, 2018).

### 3.3. Fonction de score empirique

Des fonctions de scoring empiriques sont développées pour reproduire les données expérimentales d'affinité en se basant sur les interactions inter moléculaire (telle que les interactions de Van Der Waals, les potentiels électrostatique et les liaisons hydrogènes), l'entropie du ligand et le comptage des paires d'atomes (Guedes, Pereira, & Dardenne, 2018; Pereira, Caffarena, & Dos Santos, 2016).

LUDI a été la première fonction de score empirique développée dans les travaux de Böhm (1994) pour prédire l'énergie libre de liaison absolue à partir de structures atomiques (3D) de complexes protéine-ligand.

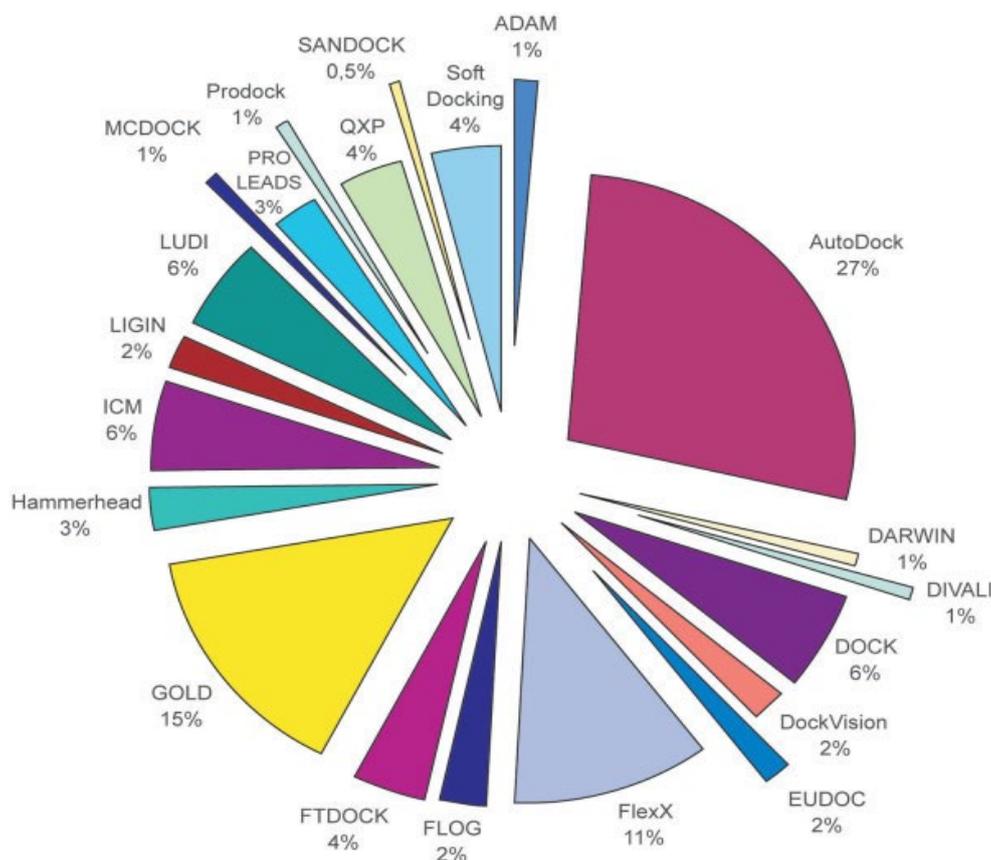
Certaines fonctions de score empiriques (également appelées fonctions de score hybrides) ont été développées à l'aide d'un mélange de descripteurs basés sur le champ de force, sur le contact et sur la connaissance, tels que DockTScore du programme DockThor (empirique et basé sur le champ de force), SMOG2016 (empirique et *knowledge-Based*) et GalaxyDock BP2 Score (empirique, champ de force et *knowledge-Based*) (Debroise, Shakhnovich, & Chéron, 2017).

## 4. Précision du docking

La portée et les capacités du docking ont été débattues au fil des ans. A ce jour, plusieurs études de référence comparant différents programmes de docking ont été publiées. Il a été montré qu'en moyenne, les méthodes de docking ont un taux de réussite d'environ 60 à 75 % dans l'identification des poses correctes. Un défi majeur reste la prédiction précise de l'énergie d'interaction entre deux molécules. Jusqu'à présent, les corrélations quantitatives entre les activités expérimentales et les scores de docking sont, en général, faibles, en raison du niveau élevé d'approximations mises en œuvre dans les fonctions de scoring. Cependant, les corrélations qualitatives sont tout à fait acceptables, comme le prouve le succès de plusieurs campagnes de screening virtuel basées sur le docking (Cross et *al.*, 2009; Elokely & Doerksen, 2013; Perola, Walters, & Charifson, 2004; Prieto-Martínez, Arciniega, & Medina-Franco, 2018; Tuccinardi, Poli, Romboli, Giordano, & Martinelli, 2014; Wang, et *al.*, 2016).

### 5. Logiciels de docking moléculaire

Actuellement, il existe plus de 30 programmes de docking moléculaire disponibles (commerciaux ou non), les plus fréquemment mentionnés sont : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM (Figure 10) (Sousa, Fernandes, & Ramos, 2006).



**Figure 10** : Logiciels de docking les plus mentionnés (Sousa, Fernandes, & Ramos, 2006)

Dans ce travail, nous avons utilisé AutoDock Vina, qui est un logiciel de docking Gratuit dérivé d'AutoDock 4, qui a été aussi développé par l'équipe d'Arthur J. Olson au Scripps Research Institute. Son principal objectif est d'augmenter la vitesse de traitement des données tout en conservant des résultats similaires ou meilleurs que ceux d'AutoDock 4, grâce au multitâche (multithreading) sur plusieurs processeurs de calcul (multi-core) en même temps. L'AutoDock Vina utilise une fonction de score basées sur le champ de force et empirique (Ferreira , Dos Santos , Oliva, & Andricopulo, 2015; Trott & Olson, 2010).

# **PARTIE II**

## Partie expérimentale

# **CHAPITRE III**

## **Matériel et méthodes**

## 1. Matériel

### 1.1. PC

Dans cette étude, nous avons utilisé un PC ayant :

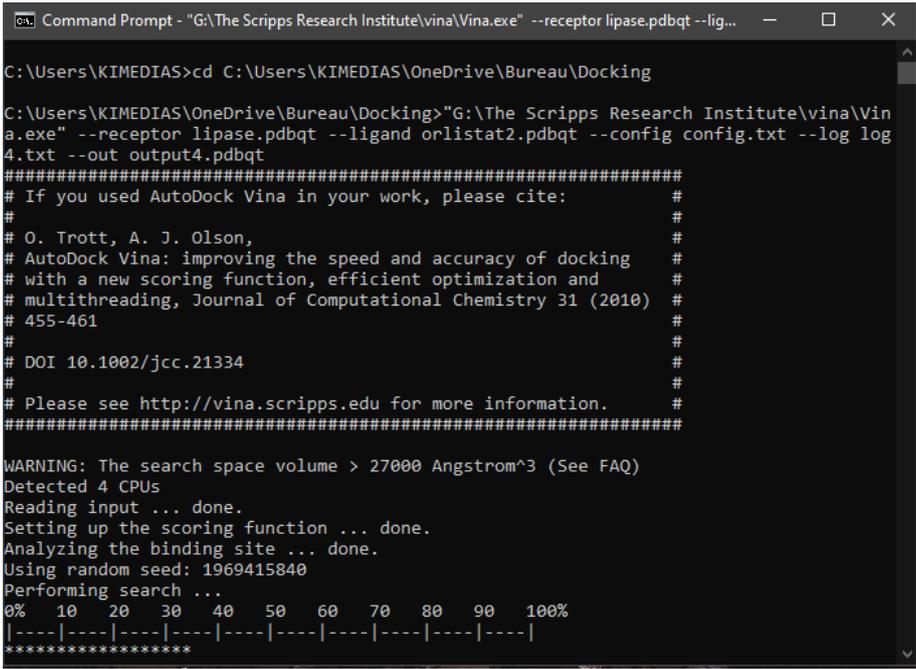
- Un CPU Intel® Core™ i3-4150 3.50 GHz (2 cœurs, 4 threads).
- Un GPU NVIDIA GeForce GT 710 954MHz, 2048Mo.
- Une RAM de 8 Go 1600 MHz.

Tous les logiciels utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10 Pro 64-bit.

### 1.2. Logiciels

Quatre logiciels ont été utilisés dans ce travail pour réaliser la partie expérimentale :

- « **Autodock Vina** » version 1.1.2, est un logiciel disponible gratuitement sur : <http://vina.scripps.edu>, permettant de réaliser le docking moléculaire, développé par le laboratoire de graphisme moléculaire de l'Institut de Recherche Scripps aux États- Unis (figure 11) (Trott & Olson, 2010).



```
Command Prompt - "G:\The Scripps Research Institute\vina\Vina.exe" --receptor lipase.pdbqt --lig...
C:\Users\KIMEDIAS>cd C:\Users\KIMEDIAS\OneDrive\Bureau\Docking
C:\Users\KIMEDIAS\OneDrive\Bureau\Docking>"G:\The Scripps Research Institute\vina\Vina.exe" --receptor lipase.pdbqt --ligand orlistat2.pdbqt --config config.txt --log log4.txt --out output4.pdbqt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1969415840
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
*****
```

**Figure 11** : Processus du docking moléculaire avec AutoDock Vina

- « **AutodockTools** » ou ADT version 1.5.7, est l'interface graphique pour AutoDock, développée par le même laboratoire qui développe AutoDock. Il sert à préparer et à visualiser les molécules étudiées, ainsi qu'exécuter et analyser les résultats de docking AutoDock (figure 12).

ADT est disponible gratuitement sur : <http://mgltools.scripps.edu/downloads>.

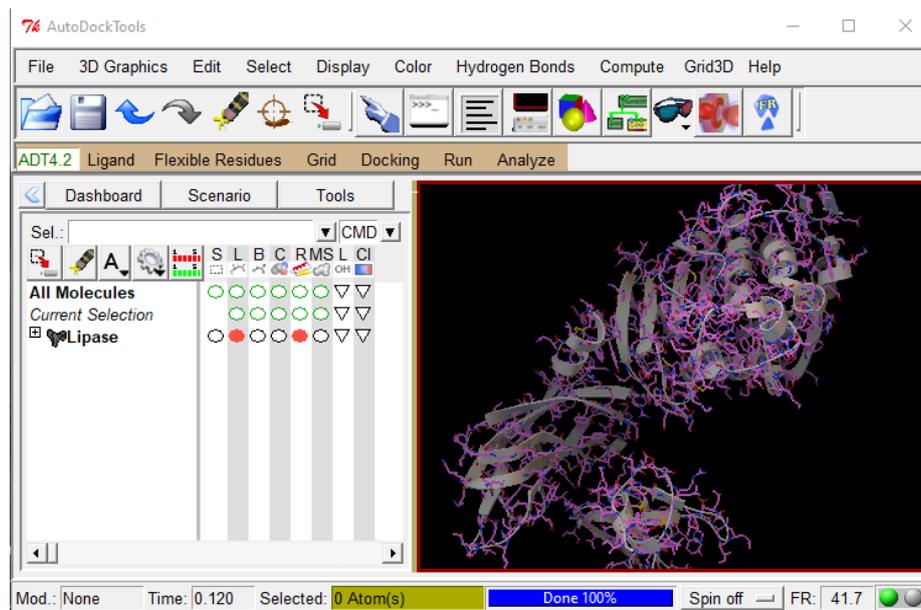


Figure 12 : Interface d'AutoDockTools

- « **PyMOL** » version 2.5, est un outil graphique de visualisation 3D et d'analyse d'interactions macromoléculaires. PyMOL est disponible gratuitement sur : <https://pymol.org/2/> (figure 13).

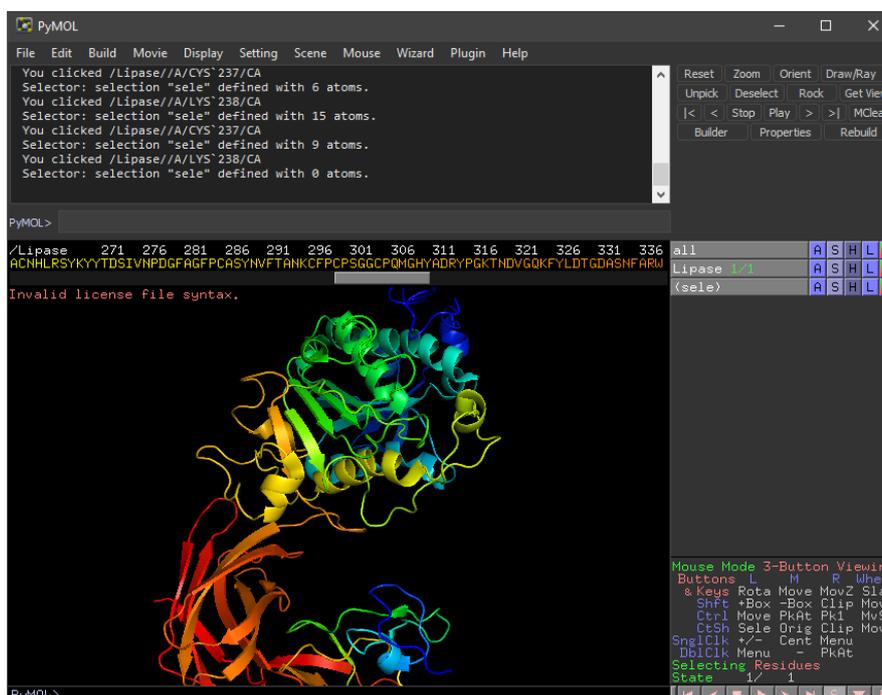


Figure 13 : Interface de logiciel de visualisation PyMOL

- « **Discovery Studio Visualizer** » ou DSV version 21.1, est une combinaison de plusieurs logiciels, conçu pour présenter un environnement interactif permettant de visualiser et de modifier des structures moléculaires, des séquences, des

données de réflexion aux rayons X, des scripts et d'autres données. DSV est développée et distribuée par « Dassault Systemes BIOVIA » (figure 14).

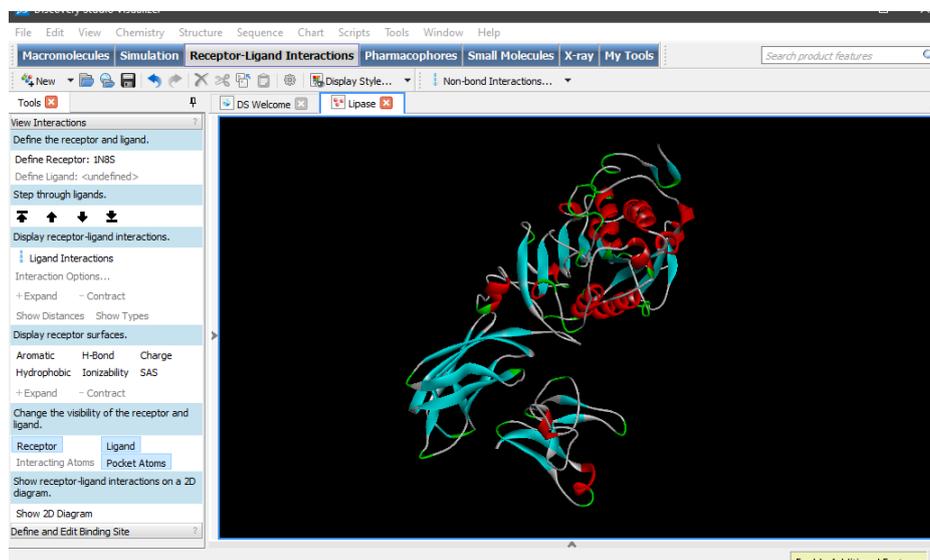


Figure 14 : Interface de logiciel DSV

- « **SwissADME** » est un site web qui permet le calcul de descripteurs physico-chimiques ainsi que la prédiction des paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la facilité d'utilisation en chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules afin de faciliter la découverte de médicaments (<http://www.swissadme.ch>) (figure 15).

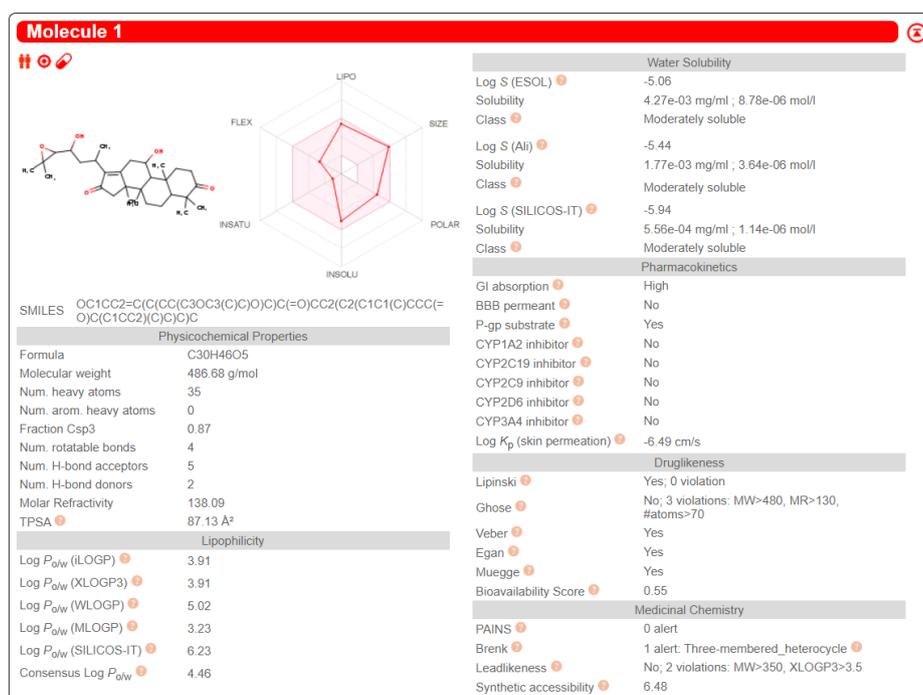


Figure 15 : Résultats d'une prédiction faite par swissADME

### 1.3. Banques de données

- « **Protein Data Bank** » ou PDB, est une base de données en ligne (<https://www.rcsb.org>) de structures tridimensionnelle de macromolécules biologiques telles que les protéines et les acides nucléiques (figure 16).

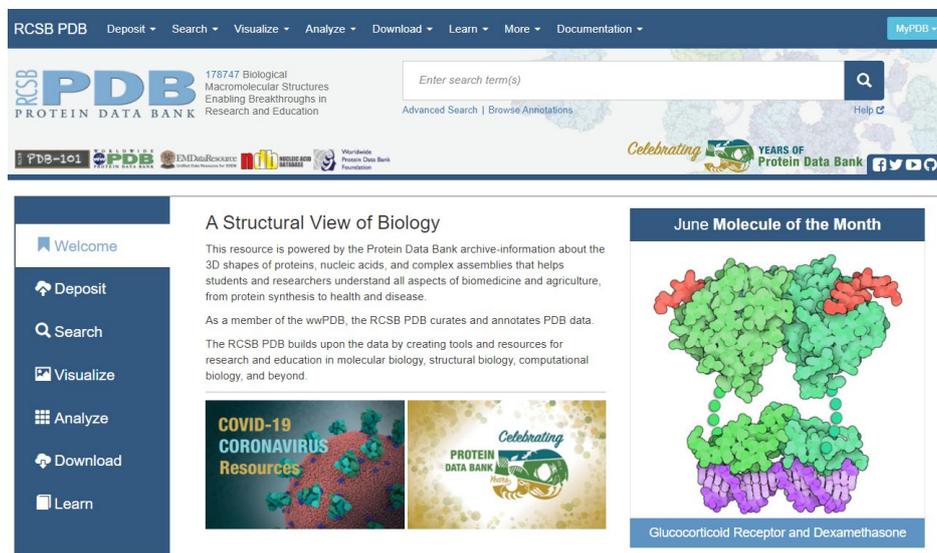


Figure 16 : Interface de la base de données PDB

- « **PubChem** » est une base de données en ligne lancée en 2004, contient principalement des petites molécules chimiques (ligands), mais aussi des grandes molécules comme les nucléotides, les glucides, les lipides, les peptides et les macromolécules modifiées chimiquement (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) (figure 17).

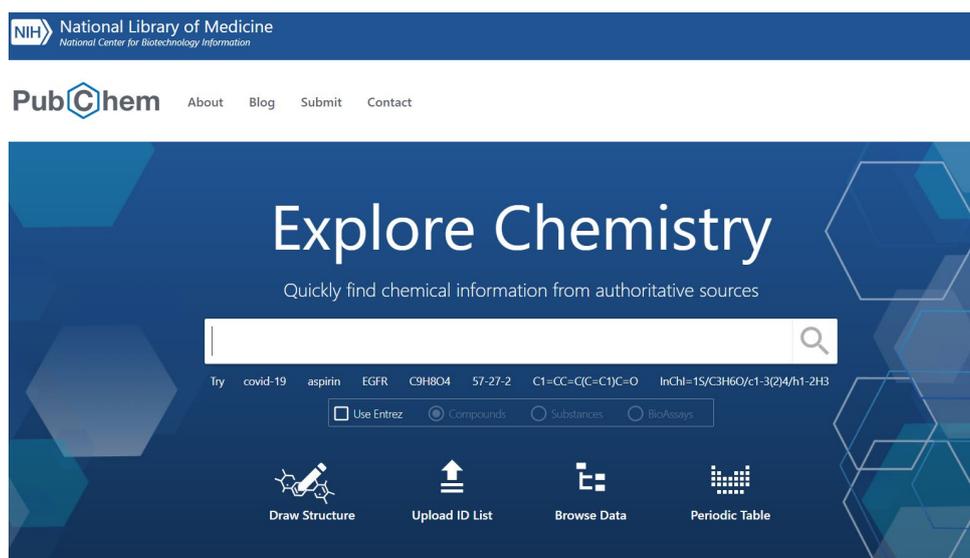


Figure 17 : Interface de la base de données PubChem

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation de la protéine

La protéine cible étudiée dans ce travail est la lipase pancréatique humaine, dont la structure tridimensionnelle a été obtenue à partir de la base données PDB.

Parmi les structures proposées par la PDB, nous avons choisis la toute première structure publiée de la LPH ayant le code 1N8S en raison de sa pureté, et de son complexe avec la colipase. Cette structure a été déterminée expérimentalement par cristallographie aux rayons X dont la résolution est 3.04 Å (Van Tilbeurgh, Sarda, Verger, & Cambillau, 1992).

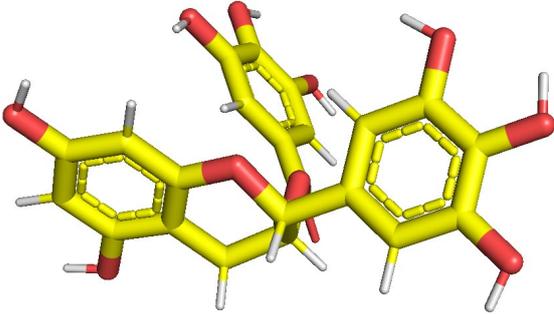
Pour l'étude des interactions entre la LPH et ses inhibiteurs à l'aide de docking moléculaire, le logiciel ADT a été utilisé pour préparer les fichiers nécessaires à AutoDock Vina, en effectuant les procédures suivants :

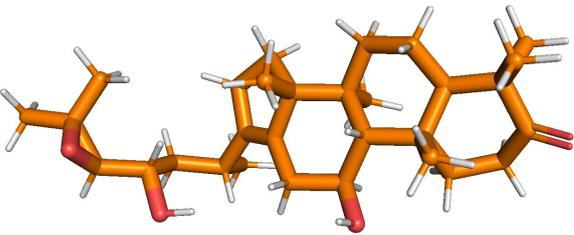
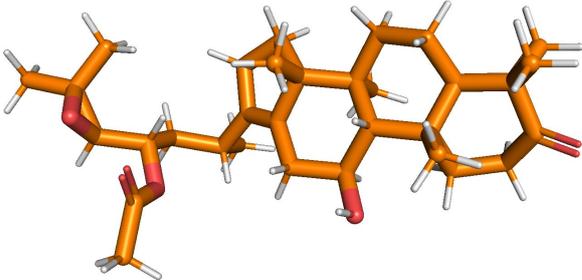
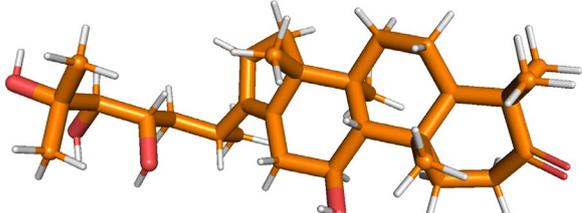
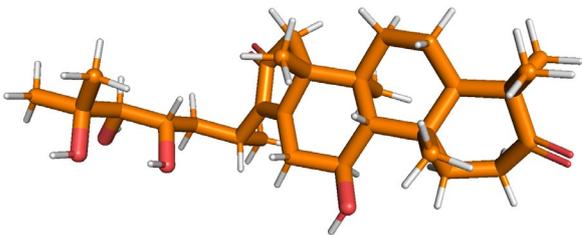
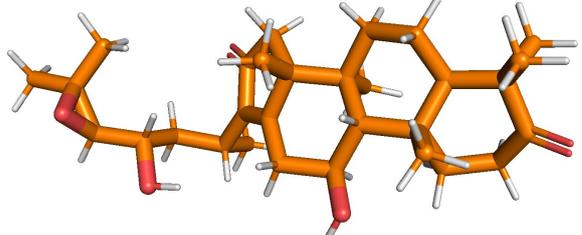
- Suppression des molécules d'eaux.
- L'affectation des hydrogènes polaires.
- L'ajout de charges de Kollman.
- Conversion de la protéine du format de fichier PDB en format PDBQT.

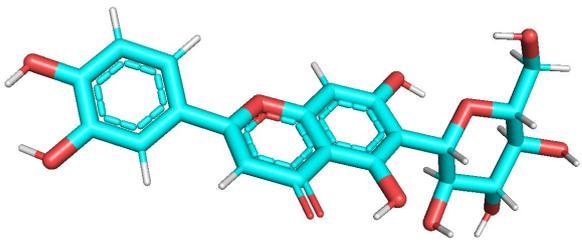
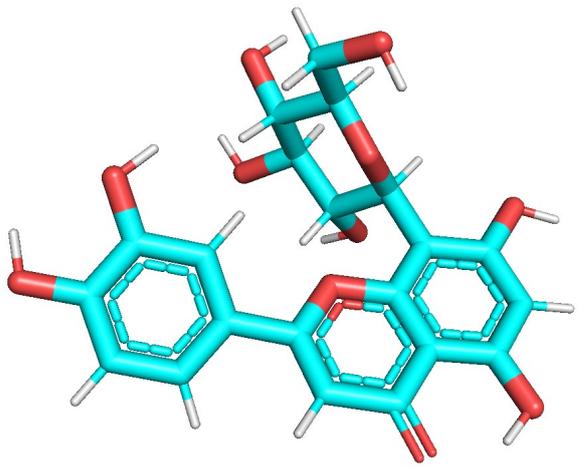
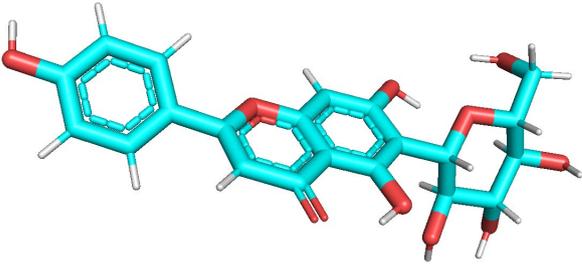
### 2.2. Préparation des inhibiteurs

Le tableau 1 représente les inhibiteurs étudié dans ce travail ainsi que leurs origines et leurs structures tridimensionnelles.

**Tableau 1** : Représentation des structures 3D des inhibiteurs étudiés dans ce travail

plantes	Inhibiteurs	Structure 3D	Source
Thé vert <i>Camellia sinensis</i>	EGCG		PubChem

<i>Alisma orientale</i>	<b>Alisol B</b>		PubChem
	<b>Alisol B 23- acétate</b>		PubChem
	<b>11-déoxyalisol B</b>		PubChem
	<b>alisol A</b>		PubChem
	<b>16-oxoalisol A</b>		PubChem
	<b>Alisol C</b>		PubChem

Feuille de bambou	<b>isorientin</b>		PubChem
	<b>orientin</b>		PubChem
	<b>isovitexin</b>		PubChem

Les structures 3D téléchargées à partir de la base de données PubChem sont sous format de fichier SDF, qui sont converties par la suite en structure en format PDB en utilisant PyMOL.

Puis, ADT a été utilisé pour effectuer les étapes suivantes :

- Fusionner les hydrogènes non polaires.
- Ajouter les charges de Gasteiger.
- Trouver les carbones aromatiques.
- Détecter les liaisons rotatives.
- Définir le TORSDOF.
- Conversion du fichier PBD en format PDBQT.

### 2.3. Docking moléculaire

Les études des interactions moléculaires entre la LPH et ses inhibiteurs ont été effectuées à l'aide du logiciel de docking moléculaire AutoDock Vina. Ce logiciel requiert une spécification

de l'espace de recherche tridimensionnelle « *Grid Box* », qui est centré sur le site d'interactions de la protéine.

Les dimensions de *grid box* étaient 64x56x90 pour X, Y, Z respectivement, l'espacement a été fixé à 1 Å, les coordonnées centrales 29.514x15.384x80.801 pour X, Y, Z respectivement. Les valeurs de l'exhaustivité et la gamme d'énergie étaient 12 et 4 respectivement.

Ensuite, AutoDock Vina procède à la recherche du complexe ligand-protéine le plus favorable via un docking flexible en utilisant un algorithme génétique (GA). L'énergie de liaison est évaluée avec un champ de forme spécifique à AutoDock Vina.

Lorsque le docking est terminé, les résultats sont enregistrés dans un fichier texte (.txt) et aussi un fichier PDBQT pour la visualisation tridimensionnelle des interactions moléculaires entre la protéine et les ligands.

# **CHAPITRE IV**

## **Résultats et discussion**

Le but de ce travail est d'étudier les interactions moléculaires entre la LPH et dix de ses potentiels inhibiteurs naturels obtenus à partir de 3 plantes différentes. L'étude de ces interactions a été réalisée à l'aide d'outils bio-informatiques à fin de prédire les composés possédant le meilleur effet inhibiteur contre la LPH, tout en ayant de faibles effets indésirables, dans le cadre du traitement de l'obésité.

Le travail a consisté en un docking moléculaire flexible suivi d'une analyse des interactions et des propriétés pharmacologiques.

### 1. Résultats de docking moléculaire

Pour chaque composé docké, AutoDock Vina génère 9 conformations différentes liées à des sites de liaison différents au niveau de la protéine étudiée, qui sont par la suite classées par ordre d'énergie de liaison.

Dans cette étude, nous avons analysé les interactions moléculaires entre la LPH et la meilleure conformation générée par AutoDock Vina pour chaque inhibiteur docké.

Les résultats de docking classés par ordre d'énergie de liaison sont montrés dans le tableau 2.

**Tableau 2** : Résultats de docking moléculaire

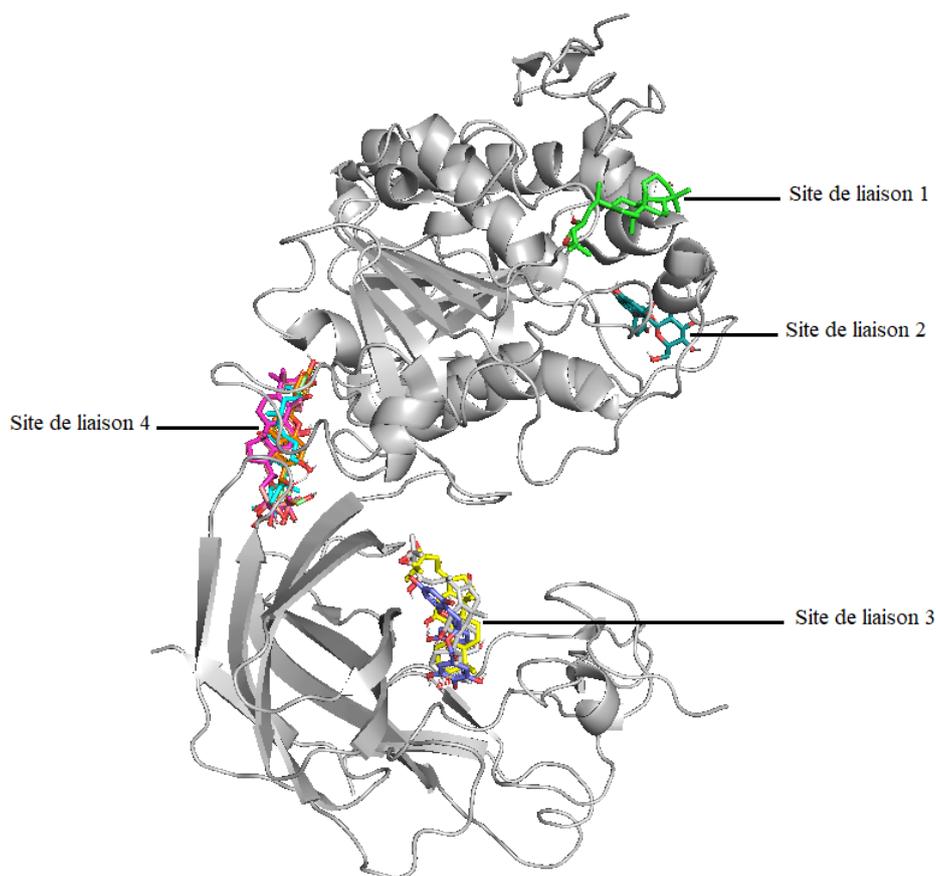
Inhibiteurs	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
<b>Alisol B 23-acétate</b>	-8.9
<b>Isoorientin</b>	-8.8
<b>Isovitexin</b>	-8.6
<b>Alisol A</b>	-8.4
<b>Alisol B</b>	-8.4
<b>16-oxoalisol A</b>	-8.3
<b>Orientin</b>	-8.1
<b>Alisol C</b>	-8.1
<b>11-déoxyalisol B</b>	-7.9
<b>EGCG</b>	-7.6

L'alisol B 23-acétate est l'inhibiteur ayant la meilleure affinité pour la LPH, suivi par l'isoorientin et l'isovitexin. L'alisol A et l'alisol B ont la même  $\Delta G^\circ$  traduisant une même

affinité, suivi du 16-oxoalisol A, l'orientin, et l'alisol C. Le 11-déoxy-alisol B et l'EGCG sont considérés comme les moins affines pour la LPH avec des  $\Delta G^\circ$  de -7.9 et -7.6 respectivement.

Les dix inhibiteurs ont été fixés sur quatre sites de liaison différents du site catalytique de la LPH (figure 18), cela démontre probablement, que ce sont des inhibiteurs non compétitifs.

- Le 11-déoxyalisol B a été fixé sur le premier site de liaison.
- L'orientin quant à lui, il s'est fixé sur le deuxième site de liaison.
- L'alisol B, l'alisol C et l'EGCG se sont liés sur le troisième site de liaison.
- Le 16-oxoalisol A, l'alisol A, l'alisol B 23-acétate, l'isoorientin et l'isovotexin sont amarrés avec le quatrième site de liaison.

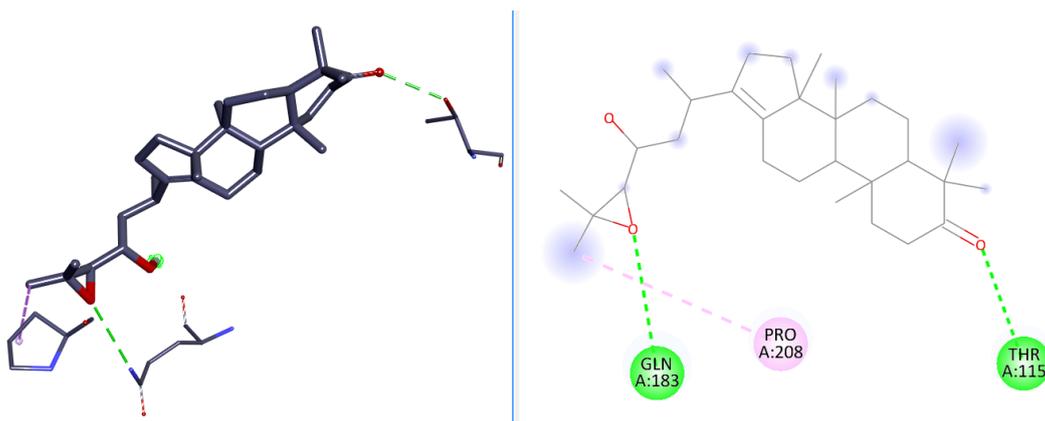


**Figure 18** : Les quatre différents sites de liaison des inhibiteurs étudiés

## 2. Les interactions moléculaires

L'analyse des interactions moléculaires a été faite à l'aide de logiciel DSV.

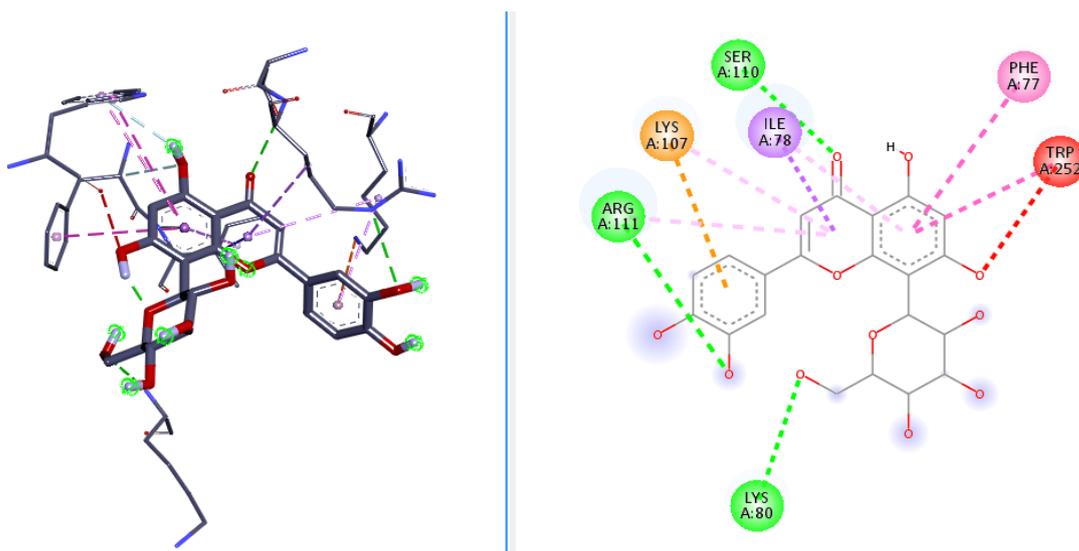
Le 11-déoxyalisol B interagit avec la LPH à travers trois résidus d'acides aminés, la Gln 183 et la Thr 115 interagissent avec deux liaisons hydrogènes (3.30 et 2.81 Å respectivement), alors que la Pro 208 interagit avec des interactions hydrophobes alkyles (4.87 Å) (figure 19).



**Figure 19** : Interactions de 11-déoxyalisol B avec la LPH

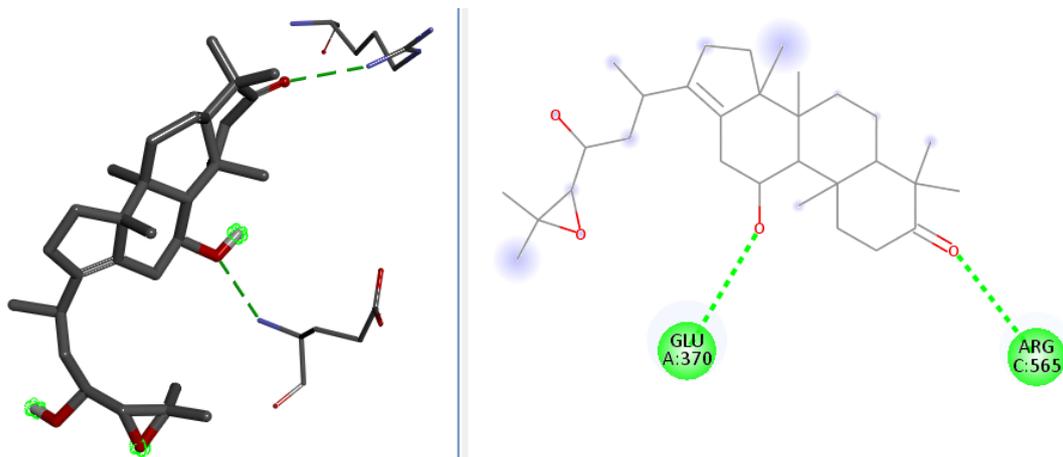
L'orientin interagit avec la LPH au moyen de 7 résidus d'acides aminés (figure 20) :

- Phe 77 et Ile 78 interagissent avec la LPH par des interactions hydrophobes de type pi-pi en forme T (5.22 Å) pour la Phe 77 et de type pi-sigma (3.61 Å) et pi-alkyle (4.96 Å) pour l'Ile 78.
- Lys 80 et Ser 110 avec deux liaisons hydrogène (3.05 et 2.78 Å).
- Lys 107 avec des interactions hydrophobes alkyle (5.18 Å) et un potentiel électrostatique de type pi-cation (4.80 Å).
- Arg 111 avec une liaison hydrogène (3.34 Å) et une interaction hydrophobe pi-alkyle (5.07 Å).
- Trp 252 avec des interactions hydrophobes de type pi-pi en forme T (6.57 Å) et une interaction accepteur-accepteur défavorable (2.82 Å).



**Figure 20** : Interactions d'orientin avec la LPH

L'alisol B interagit avec la LPH à travers de deux résidus d'acides aminés, Glu 370 et Arg 565 par deux liaisons hydrogène (2.87 et 2.80 Å respectivement) (figure 21).

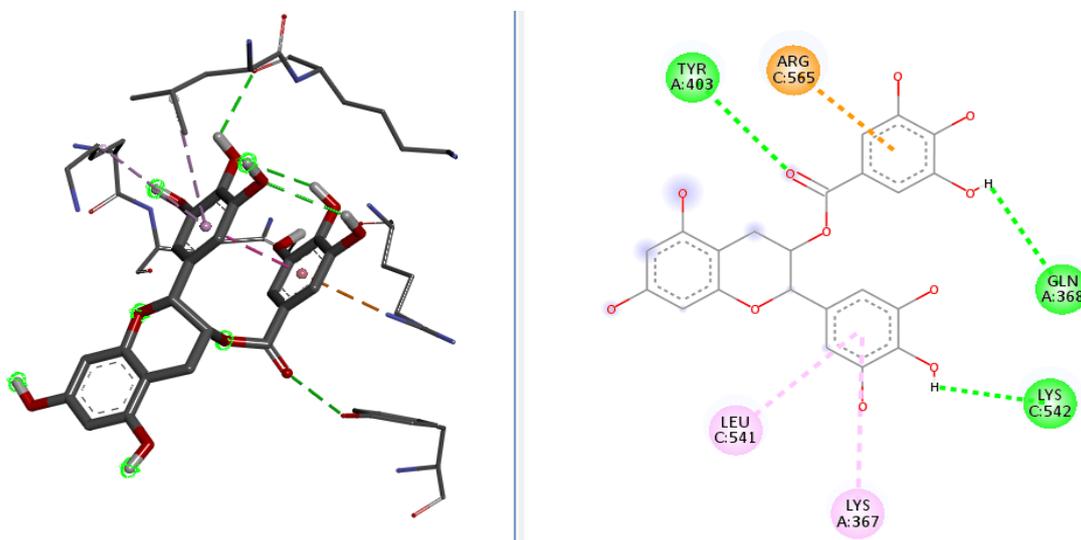


**Figure 21** : Interactions d'alisol B avec la LPH

L'alisol C interagit avec la LPH de la même façon que l'alisol B, dû à la similarité de la structure entre les deux molécules.

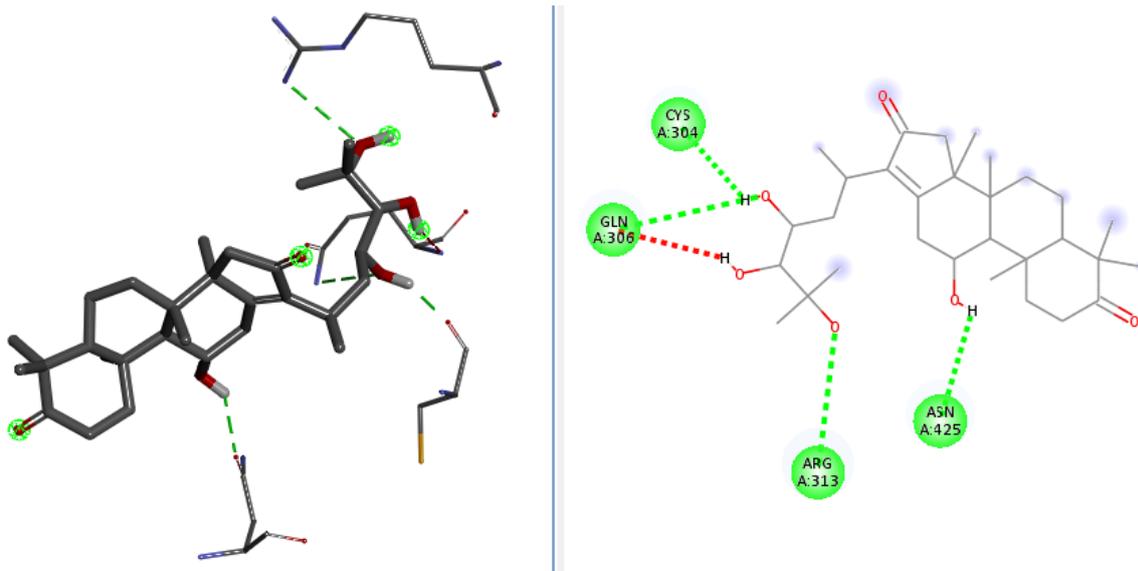
L'EGCG interagit avec la LPH par le biais de 6 résidus d'acides aminés (figure 22) :

- Lys 367 et Leu 541 avec des interactions hydrophobes de type pi-alkyle (5.48 et 5.01 Å)
- Gln 368, Tyr 403 et Lys 542 avec trois liaisons hydrogène (2.83, 2.75 et 2.78 Å).
- Arg 565 avec un potentiel électrostatique de type pi-cation (3.42 Å).



**Figure 22** : Interactions d'EGCG avec la LPH

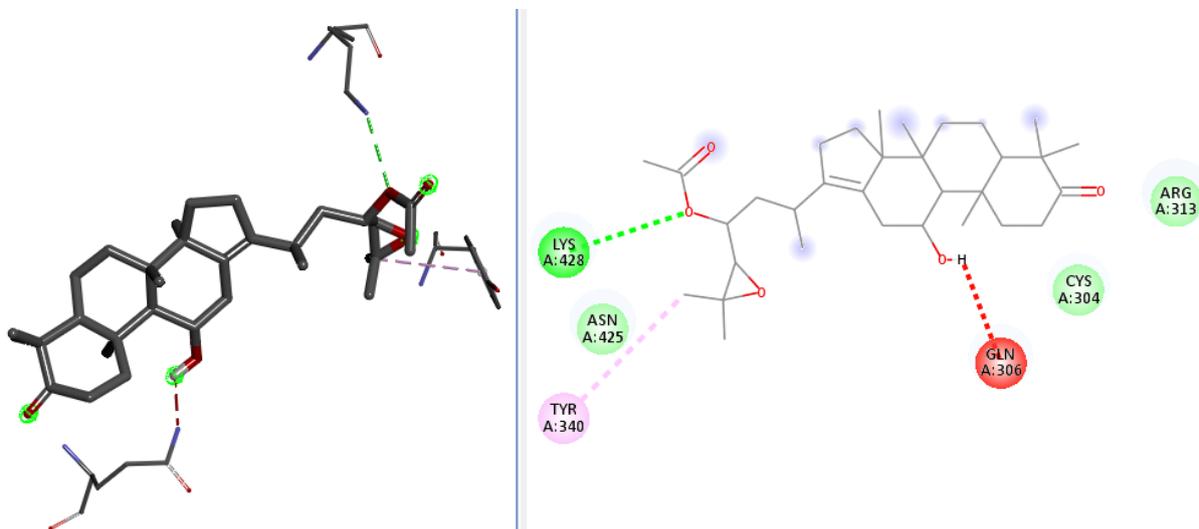
Le 16-oxoalisol A interagit avec la LPH via 4 résidus d'acides aminés par 4 liaisons hydrogène : Cys 304 (1.88 Å), Gln 306 (3.30 Å), Arg 313 (3.21 Å), Asn 425 (2.34 Å), et aussi une interaction donneur-donneur défavorable (2.44 Å) entre Gln 306 de la LPH et l'inhibiteur (figure 23).



**Figure 23** : Interactions de 16-oxoalisol A avec la LPH

L'alisol B 23-acétate interagit avec la LPH à travers 6 résidus d'acide aminés (figure 24) :

- Cys 304, Arg 313 et Asn 425 avec des interactions de Van Der Waals.
- Tyr 340 avec des interactions hydrophobe de type pi-alkyle (4.73 Å).
- Lys 428 avec une liaison hydrogène (2.83 Å).
- Une interaction défavorable de type donneur-donneur avec Gln 306 (2.28 Å).



**Figure 24** : Interactions de l'alisol B 23-acétate avec la LPH

L'alisol A interagit avec la LPH via 3 résidus d'acides aminés : Gly 393 (2.63 Å) et Lys 428 (2.90 Å) par deux liaisons hydrogène, et une interaction donneur-donneur défavorable avec Gln 306 (2.28 Å) (figure 25).

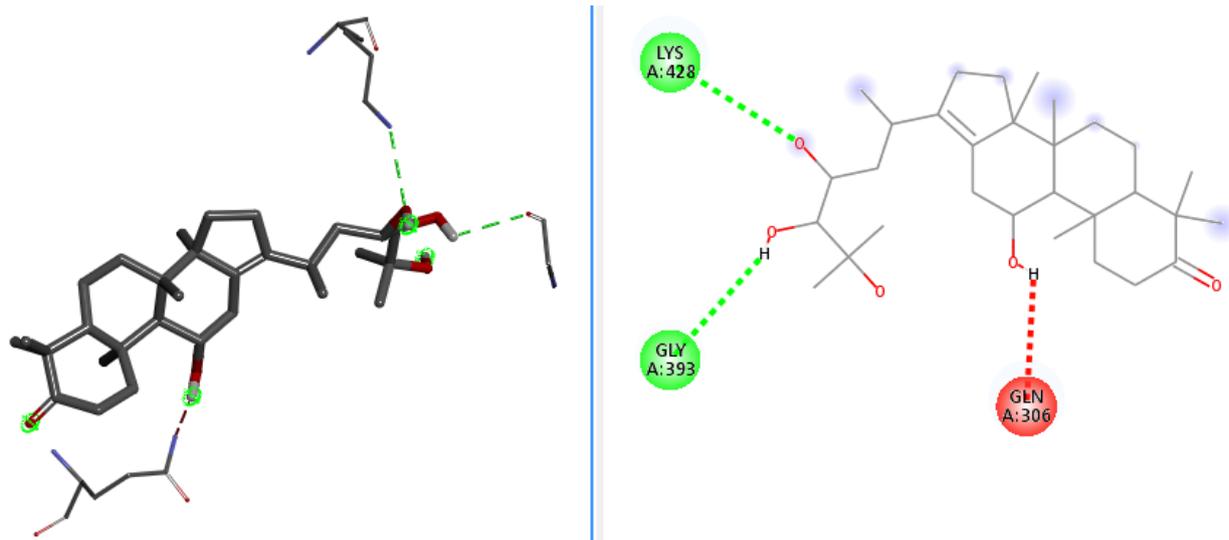


Figure 25 : Interactions d'alisol A avec la LPH

L'isoorientin interagit avec la LPH au moyen de 8 résidus d'acides aminés (figure 26) :

- Gln 306, Tyr 310, Asp 391 et Asn 425 avec quatre liaisons hydrogène (3.34, 2.46, 2.31 et 2.00 Å).
- Gly 393 et Lys 428 avec des interactions de Van Der Waals.
- Arg 313 avec une liaison hydrogène (3.02 Å) et des interactions hydrophobes de type pi-alkyle (5.43 Å).
- Des interactions défavorable de type donneur-donneur avec Tyr 314 (1.95 Å) et accepteur-accepteur avec Asn 425 (2.97 Å).

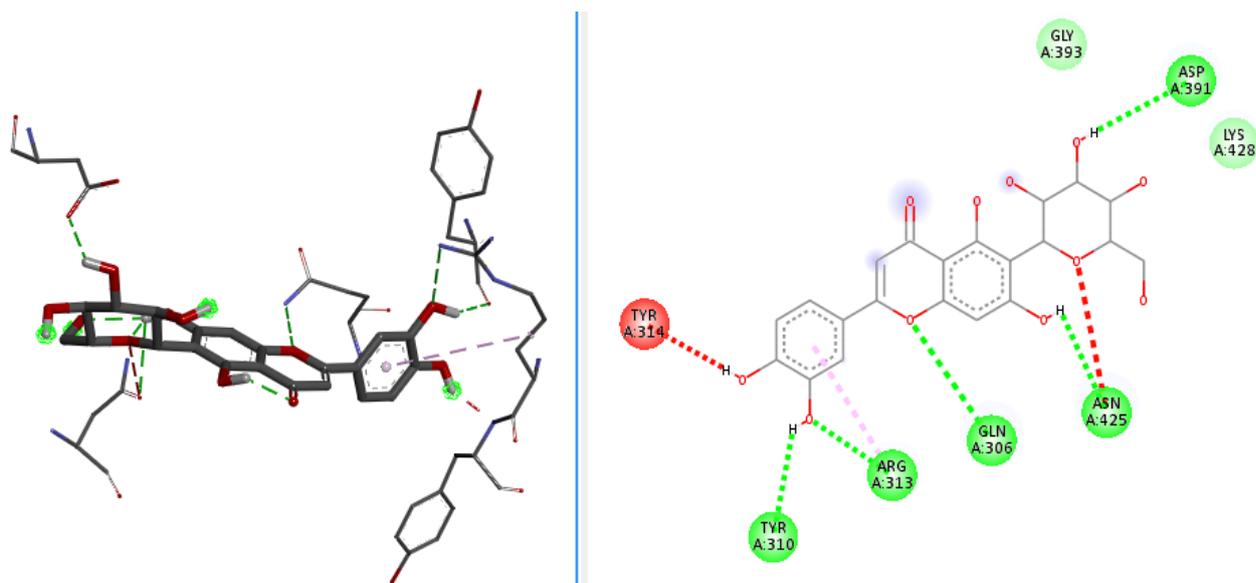


Figure 26 : Interactions de l'isoorientin avec la LPH

L'isovitexin interagit avec la LPH à travers 7 résidus d'acides aminés (figure 27) :

- Gln 306, Tyr 310, Tyr 314 et Asp 391 avec quatre liaisons hydrogène (3.32, 2.53, 3.32, 1.86 Å).
- Asp 278 avec un potentiel électrostatique de type pi-anion (4.63 Å).
- Arg 313 avec des interactions hydrophobes de type pi-alkyle (5.37 Å).
- Des interactions défavorables de type donneur-donneur et accepteur-accepteur avec Asn 425 (2.52 et 2.98 Å).

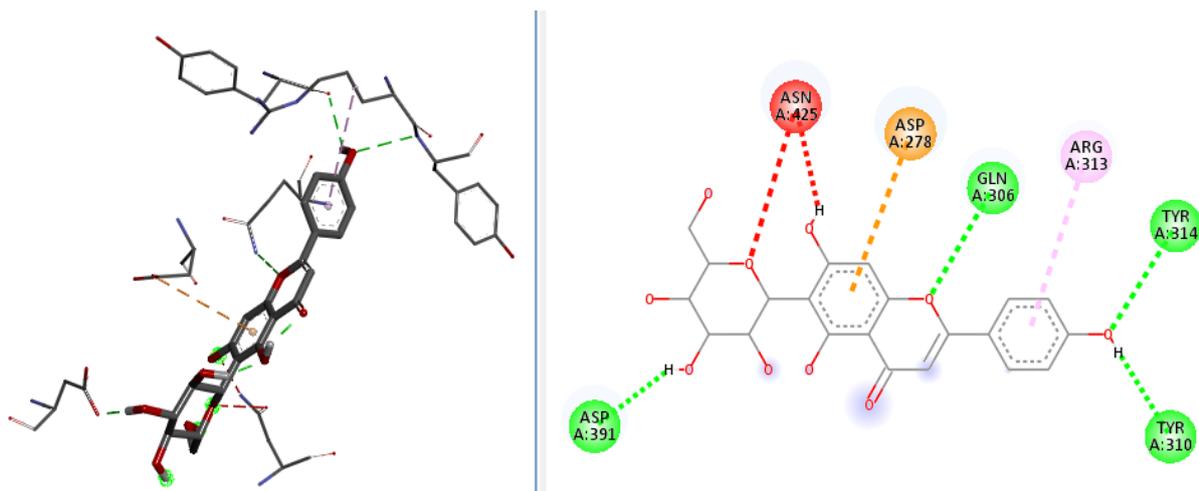


Figure 27 : Interactions de l'isovitexin avec la LPH

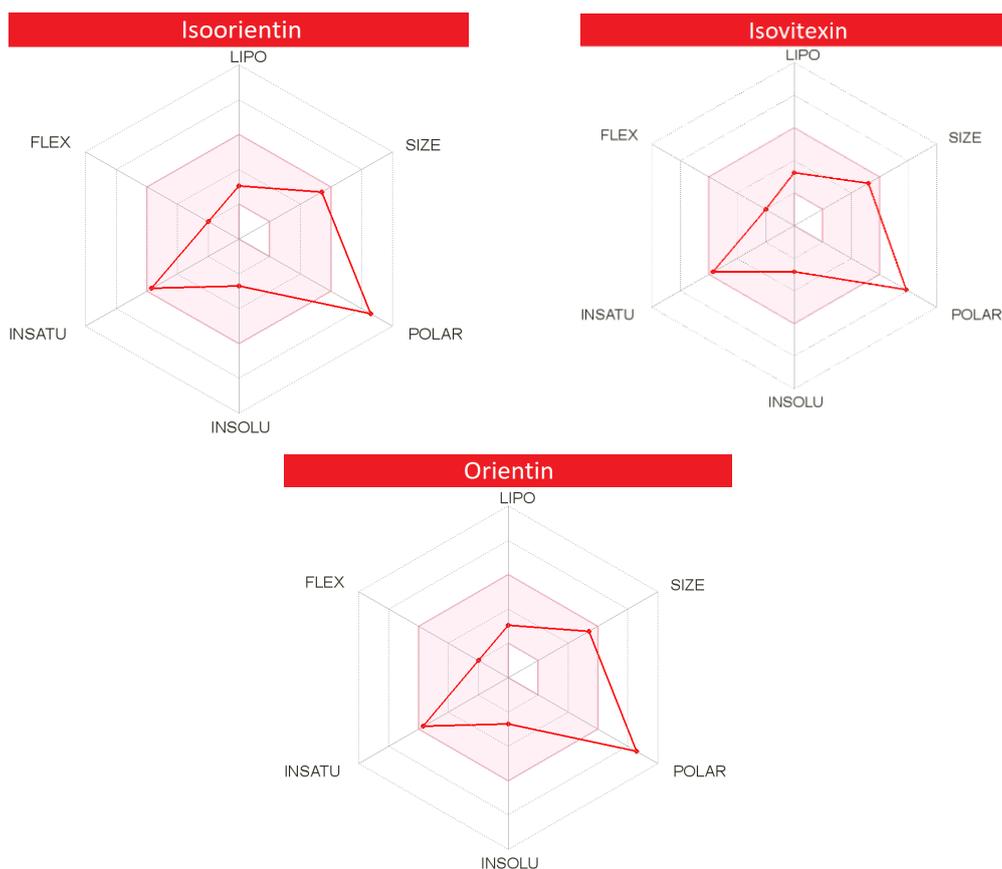
### 3. Propriétés pharmacologiques

L'analyse des propriétés pharmacologiques a été effectuée à l'aide du serveur en ligne SwissADME.

La zone rose représente la gamme optimale pour chaque propriété (figure 28)

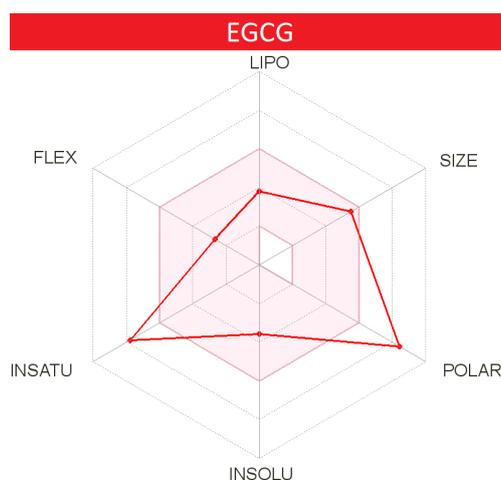
- Lipophilie : XLOGP3 entre -0,7 et +5,0.
- Taille : poids moléculaire (PM) entre 150 et 500 g/mol.
- Polarité : TPSA entre 20 et 130 Å<sup>2</sup>.
- Insolubilité : log S non supérieur à 6.
- Instauration : fraction des carbones dans l'hybridation sp<sup>3</sup> non inférieure à 0,25.
- Flexibilité : pas plus de 9 liaisons rotatives.

L'orientin, l'isoorientin et l'isovitexin partagent approximativement le même radar de biodisponibilité, en raison de la similitude entre les trois structures (figure 28). Ces 3 composés présentent 2 violations de la règle de cinq de Lipinski ( $O > 10$  ;  $OH > 5$ ), ainsi qu'une dépassant la gamme optimale sur le radar de biodisponibilité, c'est pour cela qu'ils sont prédits comme non-biodisponible par voie orale.



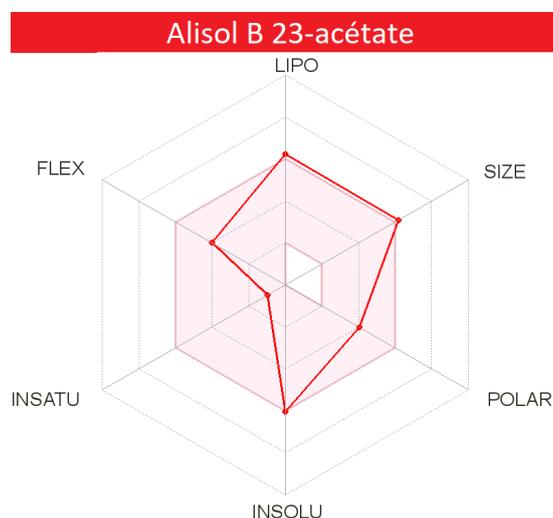
**Figure 28 :** Radar de biodisponibilité de l'orientin, l'isoorientin et l'isovitexin

L'EGCG est également prédit comme non-biodisponible par voie orale, en raison des taux élevés de l'insaturation et de la polarité, en plus de 2 violations de la règle de Lipinski ( $O > 10$  ;  $OH > 5$ ) (figure 29).



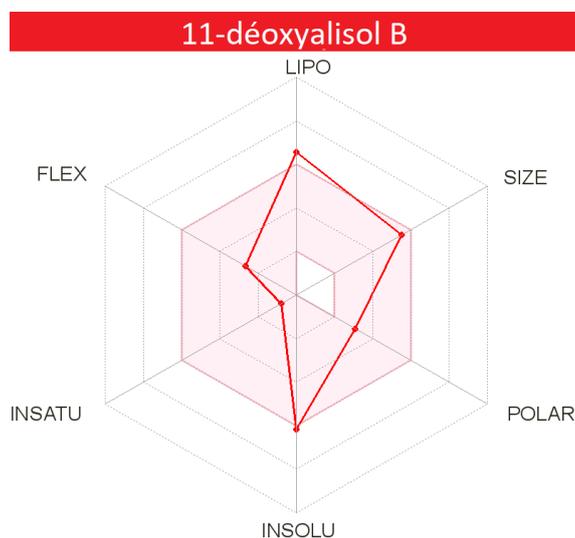
**Figure 29:** Radar de biodisponibilité de l'EGCG

L'alisol B 23-acétate, composé ayant l'affinité la plus élevée pour la LPH parmi ceux testés dans ce travail, est prédit comme non-biodisponible par voie orale, suite à la détection de 2 violations de la règle de cinq de Lipinski ( $PM > 500\text{g/mol}$  ;  $MLOGP > 4.15$ ) (figure 30).



**Figure 30** : Radar de biodisponibilité d'alisol B 23-acétate

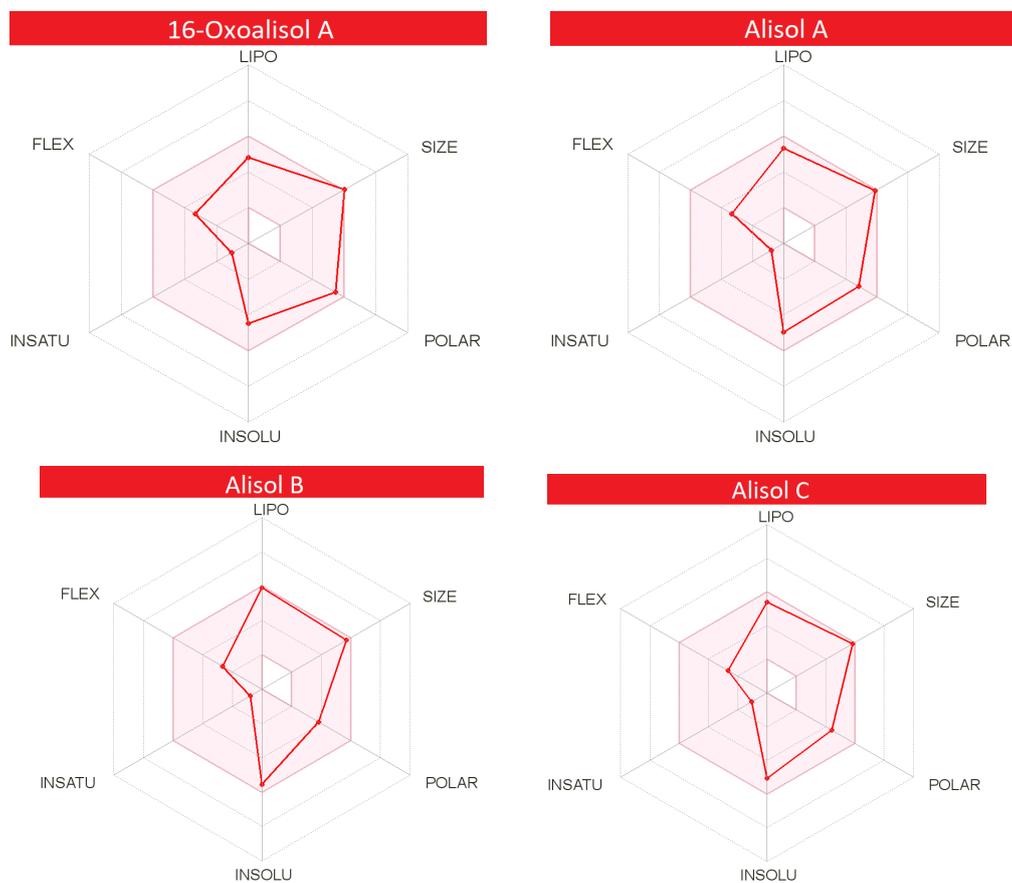
Le 11-déoxyalisol B, aussi prédit comme non-biodisponible par voie orale du fait de sa lipophilie élevée, ainsi qu'une violation d'une des règles de Lipinski qui concerne le poids moléculaire ( $PM > 500\text{g/mol}$ ) (figure 31).



**Figure 31** : Radar de biodisponibilité de 11-déoxyalisol B

Parmi les 10 inhibiteurs testés, seulement l'alisol A, le 16-oxoalisol A, l'alisol B et l'alisol C répondent à toutes les conditions de la biodisponibilité, et donc sont prédits comme des composés biodisponibles par voie orale (figure 32). Mais, l'alisol A et le 16-oxoalisol A

présentent des interactions défavorable contre la LPH. Alors seuls l'alisol B et l'alisol C dérivés d'Alisma orientale sont prédits comme de bons inhibiteurs.



**Figure 32** : Radar de biodisponibilité de l'alisol A, le 16-oxoalisol A, l'alisol B et l'alisol C

# CONCLUSION

## **CONCLUSION**

La présente étude consiste à analyser l'inhibition d'enzymes impliquées dans la maladie de l'obésité par des composés d'origine naturelle. Pour cela, nous nous sommes servis de l'outil bio-informatique afin de prédire le mode d'interactions de ces inhibiteurs avec la lipase pancréatique humaine. La méthode bio-informatique principale utilisée dans ce travail est le docking moléculaire.

Pour réaliser cette étude nous avons choisi dix inhibiteurs naturels qui sont : l'epigallocatechin gallate, principal composant actif des polyphénols du thé vert *Camellia sinensis* ; l'orientin, l'isoorientin, l'isovitexin obtenus à partir de la feuille de bambou ; et six inhibiteurs provenant de la plante *Alisma Orientale* : Alisol A, 16-oxoalisol A, Alisol B, Alisol B 23-acétate, 11-déoxyaliosl B et l'alisol C. Ensuite, une simulation *in silico* des interactions moléculaires de ces composés avec la lipase pancréatique humaine (1N8S) a été réalisée.

Les principaux logiciels utilisés pour accomplir ce travail sont AutoDock Vina pour le docking moléculaire, DSV pour l'analyse des interactions des inhibiteurs avec la lipase pancréatique humaine et SwissADME pour la prédiction de la biodisponibilité des inhibiteurs par voie orale.

Après l'analyse préliminaire des résultats, nous avons pu éliminer cinq inhibiteurs parmi les dix testés au départ, en raison de leurs interactions défavorable avec la LPH. Ensuite, l'analyse des propriétés pharmacologiques nous a permis d'éliminer 3 inhibiteurs de plus. Donc, parmi les dix composée testés, seuls l'alisol B et l'alisol C dérivés d'*Alisma orientale* sont prédits comme de bons inhibiteurs, faisant d'eux de prometteurs agents thérapeutiques naturels, sans effets indésirables pour le traitement de l'obésité.

Pour l'avenir, nous souhaitons poursuivre cette étude en recherchant d'autres composés naturels à effet inhibiteur contre la lipase pancréatique humaine. Et aussi poursuivre nos travaux sur l'analyse des interactions de la LPH avec ses potentiels inhibiteurs en faisant appel à d'autres programmes d'étude et de simulation *in silico*.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Ain, Q. U., Aleksandrova, A., Roessler, D. F., & Ballester, P. J. (2015). Machine-learning scoring functions to improve structure-based binding affinity prediction and virtual screening. *5(6)*, 405-424. doi:10.1002/wcms.1225
- Alloue, W., Aguedo, m., Destain, j., Ghalfi, h., Blecke, c., Wathélet, j., & Thonart, p. (2008). Les lipases immobilisées et leurs applications. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, *12(1)*, 57-68.
- Almasri, I. M. (2020). Computational approaches for the discovery of natural pancreatic lipase inhibitors as antiobesity agents. *FUTURE MEDICINAL CHEMISTRY*, *12(8)*, 741-758. doi:https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0284
- Aloulou , A., & Carrière, F. (2008). Gastric lipase: an extremophilic interfacial enzyme with medical applications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *65(6)*, 851-854. doi:https://doi.org/10.1007/s00018-008-7546-z
- Anobom, D. C., Pinheiro, A. S., De-andrade, R. A., Angueiras, E., Andrade, C. G., Moura, M., . . . Freire, D. (2014). From Structure to Catalysis: Recent Developments in the Biotechnological Applications of Lipase. *BioMed Research International*, *2014(1-3)*. doi:https://doi.org/10.1155/2014/684506
- Bansode, R. S., & Rathod, K. V. (2017). An Investigation of lipase catalysed sonochemical synthesis: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *38*, 503-529. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.02.02
- Barriuso, J., Vaquero, M., Prieto, A., & Martinez, M. (2016). Structural traits and catalytic versatility of the lipases from the *Candida rugosa* like family: a review. *Biotechnol Adv*, *34(5)*, 874-885. doi:https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.05.004.
- Basque, R. J., & Ménard, D. (2000). Establishment of culture systems of human gastric epithelium for the study of pepsinogen and gastric lipase synthesis and secretion. *Microscopy research and technique*, *48(5)*, 293-302. doi:10.1002/(SICI)1097-0029(20000301)48:5<293::AID-JEMT6>3.0.CO;2-A
- Baxter, C. A., Murray, C. W., Clark, D. E., Westhead, D. R., & Eldridge, M. (1998). Flexible docking using Tabu search and an empirical estimate of binding affinity. *proteins*, *33(3)*, 367-382.
- Beer, H., Wohlfahrt, G., McCarthy, J., Schomburg, D., & Schmid, R. (1996). Analysis of the catalytic mechanism of a fungal lipase using computer-aided design and structural mutants. *protein engineering*, *9(6)*, 35-36. doi:https://doi.org/10.1093/protein/9.6.507

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Birari, R. B., & Bhutani, K. K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, 12(19), 879-889. doi:10.1016/j.drudis.2007.07.024
- Böhm, H. J. (1994). The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 8, 243-256. doi: https://doi.org/10.1007/BF00126743
- Bora, L., Gohain, D., & Das, R. (2013). Recent advances in production and biotechnological applications of thermostable and alkaline bacterial lipases. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(11), 1959-1970. doi:https://doi.org/10.1002/jctb.4170
- Bordes, F., Barbe, S., Escalier, P., Mourey, L., André, I., Marty, A., & Tranier, S. (2010). Exploring the conformational states and rearrangements of *Yarrowia lipolytica* Lipase. *Biophysical journal*, 99(7), 2225-2234. doi:10.1016/j.bpj.2010.07.040
- Bose, M., Lambert, J. D., Ju, J., Reuhl, K. R., Shapes, S. A., & Yang, C. S. (2008). The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice. *The journal of nutrition*, 138(9), 1677-1683. doi:10.1093/jn/138.9.1677
- Brady, L., Brzozowski, A. M., Derewenda, Z. S., Dodson, E., Dodson, G., Tolley, S., . . . Menge, U. (1990). A serine protease triad forms the catalytic centre of a triacylglycerol lipase. *Nature*, 343, 767-770. doi:https://doi.org/10.1038/343767a0
- Bueso, F., Moreno, L., Cedeño, M., & K, M. (2015). Lipase-catalyzed biodiesel production and quality with *Jatropha curcas* oil: exploring its potential for Central America. *Journal of Biological Engineering*, 9(1), 12. doi:https://doi.org/10.1186/s13036-015-0009-9
- Casas-Godoy, L., Gasteazoro, F., Duquesne, S., Bordes, F., Marty, A., & Sandoval, G. (2018). Lipases: an overview. *Methods Mol Biol*, 1835, 3-38. doi:https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8672-9\_1.
- Chen, H., Li, J., Yao, R., Yan, S., & Wang, Q. (2020). Mechanism of lipid metabolism regulation by soluble dietary fibre from micronized and non-micronized powders of lotus root nodes as revealed by their adsorption and activity inhibition of pancreatic lipase. *Food chemistry*, 305, 125435. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125435
- Chen, L., Ye, H. -L., Zhang, G., Yao, W. -M., & Chen, X. -Z. (2014). Autophagy inhibition contributes to the synergistic interaction between EGCG and doxorubicin to kill the hepatoma Hep3B cells. *PloS*, 9(1), e85771. doi:10.1371/journal.pone.0085771

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Cross, J. B., Thompson, D. C., Rai, B. K., Baber, J. C., Fan, K., Y., . . . Humblet, C. (2009). Comparison of Several Molecular Docking Programs: Pose Prediction and Virtual Screening Accuracy. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(6), 1455-1474. doi:<https://doi.org/10.1021/>
- De Magalhães, C. S., Almeida, D. M., Barbosa, H. J., & Dardenne, L. E. (2014). A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands. *Information Sciences*, 289, 206-224. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ins.2014.08.002>
- Debroise, T., Shakhnovich, E., & Chéron, N. (2017). A Hybrid Knowledge-Based and Empirical Scoring Function for Protein-Ligand Interaction: SMOG2016. *Journal of chemical information and modeling*, 57(3), 584-593. doi:10.1021/acs.jcim.6b00610
- Derewenda, Z. S., Derewenda, U., & Dodson, G. G. (1992). The crystal and molecular structure of the Rhizomucor miehei triacylglyceride lipase at 1.9 Å resolution. *Journal of molecular biology*, 227(3), 818-839. doi:[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(92\)90225-9](https://doi.org/10.1016/0022-2836(92)90225-9)
- Després, J. -P., & Lemineux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 444(7121), 881-887. doi:10.1038/nature05488
- Dhoid, R., Laroche-Traineau, J., Shaha, R., Lapaillerie, D., Solier, E., Rualès, J., . . . Arondel, V. (2011). Identification of a putative triacylglycerol lipase from papaya latex by functional proteomics. *The FBES journal*, 278(1), 97-110. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07936.x>
- Dias, R., & Filgueira De Azevedo Jr, W. (2008). Molecular docking algorithms. *Current drug target*, 9(12), 1040-1047. doi:10.2174/138945008786949432
- Dumitriu, E., Secundo, F., Patarin, J., & Fechete, I. J. (2003). Preparation and properties of lipase immobilized on MCM-36 support. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22(3-4), 119-133. doi:[https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(03\)00015-8](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(03)00015-8)
- Eiben, A. E., & Smith, J. E. (2003). *Introduction to Evolutionary Computing*. new york: Springer-Verlag.
- Eijkmann, C. (1901). Uber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. *Zentralbl Bakt Parasitenk Infektionsk*, 29, 841-848.
- Elokely, K. M., & Doerksen, R. J. (2013). Docking challenge: Protein sampling and molecular docking performance. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(8), 1934-1945. doi:<https://doi.org/10.1021/ci400040d>

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Ferreira, G. L., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20, 13384-13421. doi:10.3390/molecules200713384
- Fickers, P., Destain, J., & Thonart, P. (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 12(2), 119-130.
- Ghanem, A., & Schurig, V. (2001). Lipase-catalyzed irreversible transesterification of 1-(2-furyl)ethanol using isopropenyl acetate. *Chirality*, 13(2), 118-123. doi:https://doi.org/10.1002/1520-636X(2001)13:2<118::AID-CHIR1007>3.0.CO;2-Q
- Ghattas, N., Abidi, F., Galai, S., Marzouki, M. N., & Salah, A. B. (2014). Monoolein production by triglycerides hydrolysis using immobilized *Rhizopus oryzae* lipase. *international journal of biological macromolecules*, 68, 1-6. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.017
- Gowthami, P., Muthukumar, K., & Velan, M. (2015). Utilization of coconut oil cake for the production of lipase using *Bacillus coagulans* VKL1. *Biocontrol science*, 20(2), 125-133. doi:https://doi.org/10.4265/bio.20.125
- Grove, K. A., Sae-tan, S., kennett, M. J., & Lambert, J. D. (2012). (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits pancreatic lipase and reduces body weight gain in high fat-fed obese mice. *Obesity (Silver Spring)*, 20(11), 2311-2313. doi:10.1038/oby.2011.139
- Guedes, I. A., Pereira, F. S., & Dardenne, L. E. (2018). Empirical Scoring Functions for Structure-Based Virtual Screening: Applications, Critical Aspects, and Challenges. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1089. doi:Empirical Scoring Functions for Structure-Based Virtual Screening: Applications, Critical Aspects, and Challenges
- Gulati, R., Bhattacharya, A., Prasad, A., Gupta, R., Parmar, V., & Saxena, R. (2001). Biocatalytic potential of *Fusarium globulosum* lipase in selective acetylation/deacetylation reactions and in ester synthesis. *Journal of applied biotechnology*, 90(4), 609-613. doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01286.x
- Guo, H., Chen, Y., Song, N., yang, X., Yao, S., & Qian, j. (2019). Screening of lipase inhibitors from bamboo leaves based on the magnetic ligand fishing combined with HPLC/MS. *Microchemical Journal*, 153. doi:https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104497
- Gupta, R., Gupta, N., & Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied microbiology and biotechnology*, 64(6), 763-781. doi:https://doi.org/10.1007/s00253-004-1568-8

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Hu, Q., Tian, Z., Wang, H., Huang, J., Wang, F., Zhao, B., . . . Ge, G. (2021). Rational design and development of a novel and highly specific near-infrared fluorogenic substrate for sensing and imaging of human pancreatic lipase in living systems. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *341*, 130033. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130033>
- Huo, P.-C., hu, Q., Shu, S., Zhou, Q.-H., He, R.-J., Hou, J., . . . Ge, G. -B. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of novel chalcone-like compounds as potent and reversible pancreatic lipase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *29*, 115853. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115853>
- Jaeger, K. E., Dijkstra, B. W., & Reetz, M. T. (1999). Bacterial Biocatalysts: Molecular Biology, Three-Dimensional Structures, and Biotechnological Applications of Lipases. *Bacterial Biocatalysts: Molecular Biology, Three-Dimensional Structures, and Biotechnological Applications of Lipases*, *53*(1), 315-351. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.53.1.315>
- Jain, A. (2007). Surflex-Dock 2.1: robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* volume, *21*(5), 281-306. doi:10.1007/s10822-007-9114-2
- Kang, H. -Y., Kim, J. F., Kim, M. H., Park, S. -H., Oh, T. -K., & Hur, C. -G. (2006). MELDB: A database for microbial esterases and lipases. *FEBS Letters*, *580*(11), 2736-2740. doi:<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.04.034>
- Kang, N. -H., Lee, W. K., Yi, B. -R., park, M. -A., Lee, H. -R., Park, S. -K., . . . Choi, K. -C. (2012). Modulation of lipid metabolism by mixtures of protamine and chitooligosaccharide through pancreatic lipase inhibitory activity in a rat model. *Laboratory animal research*, *28*(1), 31-38. doi:10.5625/lar.2012.28.1.31
- Kapoor, M., & Gupta, M. N. (2012). Lipase promiscuity and its biochemical applications. *Process Biochemistry*, *47*(4), 555-569. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.011>.
- Kim, R. J., Kim, H. J., Shim, D., & Suh, M. C. (2016). Molecular and biochemical characterizations of the monoacylglycerol lipase gene family of *Arabidopsis thaliana*. *The plant journal : for cell and molecular biology*, *85*(6), 758-771. doi:10.1111/tpj.13146
- Klibanov, M. A. (2001). Improving enzymes by using them in organic solvents. *Nature*, *409*(6817), 241-246. doi:<https://doi.org/10.1038/35051719>

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Kramer, B., Rarey, M., & Lengauer, T. (1999). Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein-ligand docking. *proteins*, 37(2), 228-241. doi:10.1002/(sici)1097-0134(19991101)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-8
- Kumar, A., & Chauhan, S. (2021). Pancreatic lipase inhibitors: The road voyaged and successes. *Life sciences*, 15(271), 119115. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119115
- Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & E, F. T. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269-288. doi:10.1016/0022-2836(82)90153-x
- Litantra, R., & Yim, J. H. (2013). Expression and biochemical characterization of cold-adapted lipases from Antarctic *Bacillus pumilus* strains. *Journal of microbiology and biotechnology*, 23(9), 1221-1228. doi:https://doi.org/10.4014/jmb.1305.05006.
- Liu, M., & Wang, S. (1999). MCDOCK: A Monte Carlo simulation approach to the molecular docking problem. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 13, 435-451. doi:https://doi.org/10.1023/A:1008005918983
- Liu, T. -T., Liu, X. -T., Chen, Q. -X., & Shi, Y. (2020). Lipase Inhibitors for Obesity: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128, 110314. doi:https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110314
- Liu, Z., Li, Y., Han, L., Li, J., Liu, J., Zhao, Z., . . . Wang, R. (2015). PDB-wide collection of binding data: current status of the PDBbind database. *Bioinformatics*, 31(3), 405-412. doi:10.1093/bioinformatics/btu626
- Lowe, M. E. (1997). Molecular mechanisms of rat and human pancreatic triglyceride lipases. *The Journal of nutrition*, 127(4), 549-557. doi:10.1093/jn/127.4.549
- Lowe, M. E. (2002). The triglyceride lipases of the pancreas. *Journal of lipid research*, 43(12), 2007-2016. doi:10.1194/jlr.r200012-jlr200
- Matassoli, A. L., Corrêa, I. N., Portilho, M. F., Veloso, C. O., & Langone, M. A. (2009). Enzymatic synthesis of biodiesel via alcoholysis of palm oil. *Applied biochemistry and biotechnology*, 155(1-3), 347-355. doi:https://doi.org/10.1007/s12010-008-8424-8
- Matori, M., Asahara, T., & Ota, Y. (1991). Positional specificity of microbial lipases. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 72(5), 397-398. doi:https://doi.org/10.1016/0922-338X(91)90094-W
- McClendon, K., Riche, D., & Uwaifo, G. (2009). Orlistat: current status in clinical therapeutics. *Expert Opinion on Drug Safety*, 8(6), 727-744. doi:https://doi.org/10.1517/14740330903321485

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Meng, X. -Y., Zhang, H. -X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146-157. doi:10.2174/157340911795677602.
- Moré, J. J., & Wu, Z. (1999). Distance Geometry Optimization for Protein Structures. *Journal of Global Optimization*, 15, 219-234. doi:https://doi.org/10.1023/A:1008380219900
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 19(14), 1639-1662. doi:https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B
- Mukherjee, A. K. (2014). Hydrophobic-hydrophilic interaction in lipase catalytic triad and possibility of a cofactor mediated catalysis. *International Journal of Agricultural and Food Science*, 4(3), 84-89.
- Nardini, M., & Dijkstra, B. W. (1999). Alpha/beta hydrolase fold enzymes: the family keeps growing. *Current opinion in structural biology*, 9(6), 732-737. doi:https://doi.org/10.1016/s0959-440x(99)00037-8
- Ngando, G., Dhouib, R., Carriere, F., Amvam Zollo, P., & Arondel, V. (2006). Assaying lipase activity from oil palm fruit (*Elaeis guineensis* Jacq.) mesocarp. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(10), 611-617. doi:https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.09.006
- Nielsen, J. (2013). Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering. *Bioengineered*, 4(4), 207-211. doi:https://doi.org/10.4161/bioe.22856
- Ollis, D. L., Cheah, E., Cygler, M., Dijkstra, B., Frolow, F., Franken, S. M., & ... Goldman, A. (1992). The  $\alpha/\beta$  hydrolase fold. *Protein Engineering, Design and Selection*, 5(3), 197-211. doi:https://doi.org/10.1093/protein/5.3.197
- Pandey, N., Dhakar, K., Jain, R., & Pandey, A. (2016). Temperature dependent lipase production from cold and pH tolerant species of *Penicillium*. *Mycosphere*, 7(10), 1553-1545. doi:https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/3b/5
- Patil, K. J., Chopda, M. Z., & Mahajan, R. T. (2011). Lipase biodiversity. *Indian Journal of Science and Technology*, 4(8), 971-982. doi:https://doi.org/10.17485/ijst/2011/v4i8.30
- Pereira, J. C., Caffarena, E. R., & Dos Santos, C. N. (2016). Boosting Docking-Based Virtual Screening with Deep Learning. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(12), 2495-2506. doi:10.1021/acs.jcim.6b00355

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Perola, E., Walters, W. P., & Charifson, P. S. (2004). A detailed comparison of current docking and scoring methods on systems of pharmaceutical relevance. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 56(2), 235-249. doi:<https://doi.org/10.1002/prot.20088>
- Pleiss, J., Fischer, M., Peiker, M., Thiele, C., & Schmid, R. D. (2000). Lipase engineering database: Understanding and exploiting sequence–structure–function relationships. *Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic*, 10(5), 491-508. doi:[https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(00\)00092-8](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(00)00092-8)
- Prieto-Martínez, F. D., Arciniega, M., & Medina-Franco, J. L. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(1), 65-87. doi:<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>
- Rabcová, J., Demianová, Z., Vondrášek, J., Jágr, M., Zarevúcka, M., & Palomo, J. M. (2013). Highly selective purification of three lipases from *Geotrichum candidum* 4013 and their characterization and biotechnological applications. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 98, 62-72. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.09.012>
- Ramos-Sánchez, L. B., Cujilema-Quitio, M. C., Julian-Ricardo, M. C., Cordova, J., & Fickers, P. (2015). Fungal Lipase Production by Solid-State Fermentation. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 5(2), 1-9. doi:<https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000203>
- Ranganathan, S., Narasimhan, S., & Muthukumar, K. (2008). An overview of enzymatic production of biodiesel. *Bioresource Technology*, 99(10), 3975-3981. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.060>
- Reetz, M. (2002). Lipases as practical biocatalysts. *Current opinion in chemical biology*, 6(2), 145-150. doi:[https://doi.org/10.1016/s1367-5931\(02\)00297-1](https://doi.org/10.1016/s1367-5931(02)00297-1)
- Renaldi, S., Belle, V., Woudstra, M., Bourgeas, R., Guigliarelli, B., Roche, P., . . . Fournel, A. (2010). Amplitude of pancreatic lipase lid opening in solution and identification of spin label conformational subensembles by combining continuous wave and pulsed EPR spectroscopy and molecular dynamics. *Biochemistry*, 49(10), 2140-2149. doi:10.1021/bi901918f
- Rengachari, S., Aschauer, P., Schittmayer, M., Mayer, N., Gruber, K., Breinbauer, R., . . . Oberer, M. (2013). Conformational plasticity and ligand binding of bacterial monoacylglycerol lipase. *the journal of biological chemistry*, 288(43), 31093. doi:10.1074/jbc.M113.491415

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Ribeiro, B. D., De Castro, A., Coelho, M., & Freire, D. (2011). Production and Use of Lipases in Bioenergy: A Review from the Feedstocks to Biodiesel Production. *Enzyme Research*, 2011(1), 615803. doi:<https://doi.org/10.4061/2011/615803>
- Rodrigues, R. C., & Fernandez-Lafuente, R. (2010). Lipase from *Rhizomucor miehei* as an industrial biocatalyst in chemical process. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 64(1-2), 1-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2010.02.003>
- Sánchez, j., Priego, T., Palou, M., Tobaruela, A., Palou, A., & Pico, C. (2008). Oral supplementation with physiological doses of leptin during lactation in rats improves insulin sensitivity and affects food preferences later in life. *Endocrinology*, 149(2), 733-740. doi:10.1210/en.2007-0630
- Sarkar, P., Yamasaki, S., Basak, S., Bera, A., & Bag, P. (2012). Purification and characterization of a new alkali-thermostable lipase from *Staphylococcus aureus* isolated from *Arachis hypogaea* rhizosphere. *Process Biochemistry*, 47(5), 858-866. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.02.023>
- Sarmah, N., Revathi, D., Sheelu, G., Yamuna Rani, K., Sridhar, S., Mehtab, V., & Sumana, C. (2018). Recent advances on sources and industrial applications of lipases. *Biotechnology progress*, 34(1), 5-28. doi:<https://doi.org/10.1002/btpr.2581>
- Sergent, T., Vanderstraeten, J., Winand, J., Beguin, P., & Schneider, Y. -J. (2012). Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances. *Food Chemistry*, 135(1), 68-73. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.074>
- Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2020). Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. Dans *Drug Discovery and Development - New Advances*. IntechOpen. doi:<https://doi.org/10.5772/intechopen.85991>
- Sharma, T., & Jana, S. (2020). Investigation of Molecular Properties that Influence the Permeability and Oral Bioavailability of Major  $\beta$ -Boswellic Acids. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 45(2), 243-255. doi:10.1007/s13318-019-00599-z
- Šinkūnienė, D., & Adlercreutz, P. (2014). Effects of Regioselectivity and Lipid Class Specificity of Lipases on Transesterification, Exemplified by Biodiesel Production. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(7), 1283-1290. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-014-2465-7>
- Soumanou, M., Pérignon, M., & Villeneuve, P. (2013). Lipase-catalyzed interesterification reactions for human milk fat substitutes production: A review. *European Journal of*

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lipid Science and Technology*, 115(3), 270-285.  
doi:<https://doi.org/10.1002/ejlt.201200084>
- Sousa, S. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2006). Protein-ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 65(1), 15-26.  
doi:10.1002/prot.21082
- Taipa, M. A., Aires-Barros, M. R., & Cabral, J. M. (1992). Purification of lipases. *Journal of Biotechnology*, 26(2-3), 111-142. doi:[https://doi.org/10.1016/0168-1656\(92\)90001-P](https://doi.org/10.1016/0168-1656(92)90001-P)
- Tang, S. -N., Fu, J., Shankar, S., & Srivastava, R. K. (2012). EGCG enhances the therapeutic potential of gemcitabine and CP690550 by inhibiting STAT3 signaling pathway in human pancreatic cancer. *PloS One*, 7(2), e31067. doi:10.1371/journal.pone.0031067
- Timmers, L., Caceres, R., Vivan, A., Gava, L., Dias, R., Ducati, R., . . . de Azevedo, W. J. (2008). Structural studies of human purine nucleoside phosphorylase: towards a new specific empirical scoring function. *Archives of biochemistry and biophysics*, 479(1), 28-38. doi:10.1016/j.abb.2008.08.015
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31, 455-461. doi:10.1002/jcc.21334
- Tuccinardi, T., Poli, G., Romboli, V., Giordano, A., & Martinelli, A. (2014). Extensive consensus docking evaluation for ligand pose prediction and virtual screening studies. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(10), 2980-2986.  
doi:<https://doi.org/10.1021/ci500424n>
- Van Tilbeurgh, H., Sarda, L., Verger, R., & Cambillau, C. (1992). Structure of the pancreatic lipase-colipase complex. *Nature*, 359, 159-162.
- Verger, R., Ferrato, F., Aoubala, M., De Caro, A., & Ivanova, M. (1994). *Esterase, lipase, and phospholipase : from structure to clinical significance* (Vol. 266). (M. I. Mackness, & M. Clerc, Éd.) Springer science & business media.
- Wang, S., Sun, Z., Dong, S., Liu, Y., & Liu, Y. (2014). Molecular Interactions between (-)-Epigallocatechin Gallate Analogs and Pancreatic Lipase. *PloS One*, 9(11), e111143.  
doi:10.1371/journal.pone.0111143
- Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., . . . Hou, T. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 12964-12975. doi:<https://doi.org/10.1039/c6cp01555g>

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Watanabe, Y., Sato, S., Sera, S., Sato, C., Yoshinaga, K., Nagai, T., . . . Aki, T. (2014). Enzymatic Analysis of Positional Distribution of Fatty Acids in Solid Fat by 1,3-Selective Transesterification with *Candida antarctica* Lipase B. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *91*, 1323-1330. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-014-2481-7>
- Winkler, F. K., D'Arcy, A., & Hunziker, W. (1990). Structure of human pancreatic lipase. *Nature*, *343*, 771-774. doi:<https://doi.org/10.1038/343771a0>
- Xu, H., Lan, D., Yang, B., & Wang, Y. (2015). Biochemical properties and structure analysis of a DAG-Like lipase from *Malassezia globosa*. *International journal of molecular sciences*, *16*(3), 4865-4879. doi:10.3390/ijms16034865
- Yamada, Y., Kato, T., Ogino, H., Ashina, S., & Kato, K. (2008). Cetilistat (ATL-962), a novel pancreatic lipase inhibitor, ameliorates body weight gain and improves lipid profiles in rats. *Hormone and metabolic research*, *40*(8), 539-543. doi:10.1055/s-2008-1076699
- Yan, Q., Duan, X., Liu, Y., Jiang, Z., & Yang, S. (2016). Expression and characterization of a novel 1,3-regioselective cold-adapted lipase from *Rhizomucor endophyticus* suitable for biodiesel synthesis. *Biotechnology for Biofuels*, *9*(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s13068-016-0501-6>
- Yang, F., Gu, L., Han, Z., & Wang, Z. (2021). Rapid screening for natural lipase inhibitors from *Alisma orientale* combining high-performance thin-layer chromatography-bioautography with mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, *1170*, 122599. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122599>
- Zhou, J., Farah, B. L., Sinha, A. R., Wu, Y., Singh, B. K., Bay, B. -H., . . . Yen, P. M. (2014). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, stimulates hepatic autophagy and lipid clearance. *PloS one*, *9*(1), e87161. doi:10.1371/journal.pone.0087161
- Zin, N. B., Yusof, B. M., Oslan, S. N., Wasoh, H., Tan, J. S., Ariff, A. B., & Halim, M. (2017). Utilization of acid pre-treated coconut dregs as a substrate for production of detergent compatible lipase by *Bacillus stratosphericus*. *AMB Express*, *7*(1), 131. doi:<https://doi.org/10.1186/s13568-017-0433-y>